



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS



**Tolerancia a aguas residuales y efecto del ácido cítrico en la
remoción de Pb y Cd por vitroplantas de *Typha* spp.**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRESENTA:

LBQ. Amauri Ponce Hernández

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Candy Carranza Álvarez

CODIRECTOR:

Dr. Ángel Josabad Alonso Castro

ASESOR

Dr. Ramón Fernando García de la Cruz

San Luis Potosí, S.L.P.

enero de 2022

El programa de Maestría en Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 000519, en el nivel consolidado.

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 1008025.

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

Proyecto realizado en:

Laboratorio de Investigación en Ciencias Ambientales
Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Con financiamiento del:

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través del proyecto

INFRA-269491



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS



**Tolerancia a aguas residuales y efecto del ácido cítrico en la
remoción de Pb y Cd por vitroplantas de *Typha* spp.**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRESENTA:

LBQ. Amauri Ponce Hernández

SINODALES

DIRECTOR: Dra. Candy Carranza Álvarez

CODIRECTOR: Dr. Ángel Josabad Alonso Castro

ASESOR: Dr. Ramón Fernando García de la Cruz

INTEGRANTES DEL SUBCOMITÉ DE TESIS

Dra. Candy Carranza Álvarez. Directora de tesis. Adscrita al Posgrado en Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P.

Dr. Ángel Josabad Alonso Castro. Codirector de tesis. Adscrito al Departamento de Farmacia de la Universidad de Guanajuato. Gto.

Dr. Ramón Fernando García De la Cruz. Asesor de tesis. Adscrito al Posgrado en Ciencias Químicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, S.L.P.



Tolerancia a aguas residuales y efecto del ácido cítrico en la remoción de Pb y Cd por vitroplantas de *Typha* spp. by Amauri Ponce Hernández is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

*Esta tesis está dedicada a mi Dios por estar a mi lado en todo tiempo y todo lugar, y
por permitirme alcanzar mis anhelos.*

*Dedicada a mis padres por el amor y apoyo constante e incondicional que siempre
me mostraron.*

*Dedicada a Amada, con amor, por permanecer a mi lado y por mostrar el apoyo, y
ánimo.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera muy especial a la Dra. Candy Carranza, por darme la oportunidad de llevar a cabo el presente trabajo, por su apoyo constante, por sus consejos, por su confianza y el conocimiento que invirtió en mi formación

Al Dr. Ángel J. Alonso Castro por la asesoría, el apoyo, la colaboración y la atención que me ofreció durante la realización del presente proyecto.

Al Dr. Ramón Fernando García de la Cruz, por su asesoría y gran apoyo en la realización, estructuración y escritura del presente trabajo.

A mis amigos y compañeros de laboratorio, por mostrar siempre apoyo durante la realización del presente proyecto. Especial agradecimiento al M. C. Luis J. Castillo Pérez, M. C. Claudia E. Moctezuma, M. C. Paola Lucero BQ. Daniel Torres, BQ. Gilberto, BQ. Alejandra Martínez, M. C. Ángel y M. C. Rocío.

Al CONACyT por otorgarme la beca para financiar mis estudios de maestría para poder cumplir con el compromiso del proyecto.

A cada uno de los doctores de la Facultad de Ciencias Químicas que ayudaron en mi formación profesional de maestría a través de la impartición de materias.

Al personal administrativo que me ayudo a cubrir los requerimientos necesarios para mi titulación, y en general a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, por abrir sus puertas y darme una preparación profesional.

RESUMEN

El 80% del agua residual (AR) en el mundo se vierte al ambiente sin haber recibido un tratamiento adecuado. En México, solo el 57% de las aguas residuales generadas se les ha aplicado un tratamiento de remediación., lo cual crea la necesidad de desarrollar tecnologías para su depuración. La fitorremediación es una alternativa de tratamiento debido a su alta eficacia de remoción de contaminantes, la cual no ha sido aplicada como una técnica para reutilización y saneamiento de aguas residuales. Este proceso es empleado para remediar suelos y cuerpos de agua contaminados con metales a través de plantas. Las plantas del género *Typha* son conocidas por su capacidad de acumular altas concentraciones de metales. Además, el uso de compuestos orgánicos como el ácido cítrico (AC) mejora la biodisponibilidad de los metales, optimizando la captación. El análisis fisicoquímico realizado en el presente estudio demostró que, los valores de los parámetros evaluados como temperatura, pH, conductividad, sólidos totales disueltos, y calcio se encuentran dentro de los parámetros permisibles por la NOM-003. las AR presentaron niveles altos de dureza total y se detectaron concentraciones de Pb y Cd. En el establecimiento del cultivo *in vitro* de semillas de *Typha* se logró el 100% de germinación a los 15 días, con un 8.4% de contaminación generando 30 ± 3 vitroplántulas por frasco. La evaluación de la tolerancia de *Typha* a aguas residuales crudas en presencia y ausencia de AC demostró que, *Typha* presentó mayor tolerancia a las muestras de aguas residuales de Salida que al resto de las muestras, y que el AC favorece la tolerancia y crecimiento de raíces secundarias. Por otro lado, las plántulas de *Typha* que se expusieron a cultivo hidropónico de mezcla de metales de Pb y Cd mostraron que altas concentraciones de Pb y Cd redujeron significativamente el crecimiento y contenido de clorofila de las plántulas, pero la adición de AC mostró un incremento de estos valores y una mayor remoción de Cd en mezcla de Pb-Cd.

Palabras clave: Fitorremediación, aguas residuales, *Typha* spp., metales, ácido cítrico.

ABSTRACT

In the world a 80% of the wastewater (WW) is discharged into the environment without having received adequate treatment. In Mexico, only 57% of the wastewater generated has undergone remediation treatment, which creates the need to develop technologies for its purification. Phytoremediation is a treatment alternative due to its high pollutant removal efficiency, which has not been applied as a technique for wastewater reuse and sanitation. This process is used to remedy soils and bodies of water contaminated with metals through plants. Plants of the genus *Typha* are known for their ability to accumulate high concentrations of metals. In addition, the use of organic compounds such as citric acid (CA) improves the bioavailability of metals, optimizing uptake. The physicochemical analysis carried out in the present study showed that the values of the parameters evaluated such as temperature, pH, conductivity, total dissolved solids, and calcium are within the parameters allowed by NOM-003. the RA presented high levels of total hardness and concentrations of Pb and Cd were detected. In the establishment of the in vitro culture of *Typha* seeds, 100% germination was achieved after 15 days, with 8.4% contamination generating 30 ± 3 vitroplantlets per jar. The evaluation of the tolerance of *Typha* to raw wastewater in the presence and absence of AC showed that *Typha* presented greater tolerance to the samples of wastewater from the Outlet than to the rest of the samples, and that the AC favors tolerance and root growth. high schools. On the other hand, *Typha* seedlings that were exposed to Pb and Cd metal mixture hydroponic culture showed that high concentrations of Pb and Cd significantly reduced growth and chlorophyll content of seedlings, but the addition of AC showed an increase. of these values and a higher removal of Cd in Pb-Cd mixture.

Keywords: Phytoremediation, wastewater, *Typha* spp., metals, citric acid.

ÍNDICE

Pág.

CAPÍTULO I	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Antecedentes	3
1.3 Planteamiento del problema.....	6
1.4 Justificación.....	6
1.5 Hipótesis y objetivos.....	7
1.5.1 Hipótesis.....	7
1.5.2 Objetivo general.....	7
1.5.3 Objetivos específicos	7
CAPITULO II	31
MARCO TEÓRICO.....	31
2.1 Disponibilidad de agua y factores que afectan la calidad.....	31
2.2 Contaminantes del agua.....	31
2.2.1 Patógenos.....	32
2.2.2 Nutrientes y contaminantes agrícolas.....	32
2.2.3 Solidos suspendidos y sedimentos.....	33
2.2.4 Contaminantes térmicos	33
2.2.5 Contaminantes radioactivos.....	34
2.2.6 Contaminantes orgánicos	34
2.2.7 Contaminantes inorgánicos	35
2.3 Metales pesados	35
2.3.1 Cadmio sus características y efectos en la salud	36
2.3.2 Plomo sus características y efectos en la salud	38
2.4 Fitorremediación.....	39
2.4.1 Mecanismos de fitorremediación	40
Fitovolatilización.....	40
Rizofiltración.....	41
Fitoextracción.....	42
Fitoestabilización.....	43
Fitodegradación	44
2.4.2 Mecanismo de fitorremediación de plomo	45
2.4.3 Mecanismo de fitorremediación de cadmio.....	47
2.5 Cultivo de tejido vegetal	32
2.6 Compuestos químicos quelantes	33

2.6.1 Ácido cítrico	33
CAPITULO III	36
MATERIALES Y MÉTODOS	36
3.1 Análisis fisicoquímico de muestras de aguas residuales	36
3.1.1. Dureza total en aguas residuales	36
3.2 Cuantificación de los metales en aguas residuales por espectrofotometría de absorción atómica	37
3.3 Material vegetal	38
3.3.1 Colecta y asepsia de semillas de <i>Typha</i> spp.	38
3.4 Preparación de medios de cultivo.....	38
3.5 Establecimiento del cultivo <i>in vitro</i> de <i>Typha</i> spp.	38
3.6 Características de desarrollo de <i>Typha</i> spp. en aguas residuales crudas y aguas residuales estériles.....	39
3.6.1 Características de desarrollo de <i>Typha</i> spp. en aguas residuales crudas con adición de ácido cítrico	40
3.7 Vitroplantas de <i>Typha</i> spp. expuestas a solución de Pb y Cd.....	40
3.7.1 Vitroplantas de <i>Typha</i> spp. expuestas a solución de Pb y Cd con adición de ácido cítrico.....	41
3.8 Evaluación de los parámetros de fitotoxicidad de <i>Typha</i> spp. desarrollada en soluciones de Pb y Cd y aguas residuales.....	42
3.8.1 Índice de crecimiento de <i>Typha</i> spp.	42
3.8.2 Determinación de clorofila a, b y total de <i>Typha</i> spp.	43
3.9 Digestión ácida del tejido radicular y aéreo de vitroplantas de <i>Typha</i> spp.	44
3.10 Digestión ácida del medio de cultivo	45
3.11 Elaboración de curva estándar de los metales por espectrofotometría de absorción atómica	45
3.12 Análisis estadístico	46
CAPÍTULO IV	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1 Características fisicoquímicas de agua residual de las 3 etapas de tratamiento.	49
4.2 Efecto fitotóxico de plántulas de <i>Typha</i> spp. expuestas a aguas residuales estériles y aguas residuales crudas	50
4.2.1 Establecimiento del cultivo <i>in vitro</i> de <i>Typha</i> spp.	50
4.2.2 Determinación de índice de crecimiento	50
4.2.3 Determinación de clorofila	51
4.3 Efecto del ácido cítrico en la tolerancia y fitotoxicidad de <i>Typha</i> spp. en aguas residuales.....	51
4.3.1 Determinación de índice de crecimiento	51

4.3.2 Determinación de clorofila en <i>Typha</i> spp. expuesta a aguas residuales con adición de ácido cítrico	52
4.4 Fitoextracción de Pb y Cd por vitroplantas de <i>Typha</i> spp.	52
4.4.1 Cuantificación de Pb y Cd en tallo y raíz de vitroplantas de <i>Typha</i> spp.....	52
4.4.2 Cuantificación de Pb y Cd en el medio de desarrollo de vitroplantas de <i>Typha</i> spp.....	53
4.4.3 Determinación de índice de crecimiento	53
4.5 Fitoextracción de Pb y Cd por vitroplantas de <i>Typha</i> spp. con adición de ácido cítrico	54
4.5.1 Cuantificación de Pb y Cd acumulado en tejido vegetal de <i>Typha</i> spp. con adición de ácido cítrico	54
4.5.2 Determinación de clorofila en <i>Typha</i> spp. expuesta a metales con adición de ácido cítrico	55
CAPÍTULO V	55
CONCLUSIONES	¡Error! Marcador no definido.
PERSPECTIVAS	¡Error! Marcador no definido.
REFERENCIAS	56
ANEXO I	¡Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Ventajas de la fitorremediación. ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 2.** Mecanismos de fitorremediación de contaminantes. ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 3.** Mecanismo de fitorremediación del cadmio. ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 4.** Compuestos utilizados como enmiendas químicas en la fitorremediación. ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 5.** Estructura química del ácido cítrico..... 34
- Figura 6.** Efectos del ácido cítrico en la mitigación de la toxicidad de los metales pesados en las plantas..... ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 7.** Análisis fisicoquímicos de muestras de muestras de aguas residuales.. ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 8.** Determinación de dureza total por titulación complejométrica. ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 9.** Equipo de espectroscopia de absorción atómica. ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 10.** Modelo experimental de plántulas de *Typha* spp. expuestas a aguas residuales crudas y estériles. 39
- Figura 11.** Modelo experimental de *Typha* spp. expuesta a mezcla de plomo y cadmio. 41
- Figura 12.** Porcentaje de germinación de vitroplantas de *Typha* spp. ¡Error! Marcador no definido.
- Figura 13.** Morfología de plántulas de *Typha* spp..... ¡Error! Marcador no definido.

Figura 14. Altura del tallo de *Typha* spp. a 90 días de cultivo *in vitro*..... **¡Error!**

Marcador no definido.

Figura 15. Determinación de índice de crecimiento de tallo y raíz de plántulas de *Typha* spp. expuestas a aguas residuales estériles y crudas . **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 16. Contenido de clorofila total de *Typha* spp. expuestas a aguas residuales estériles y aguas residuales crudas **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 17. Determinación del índice de crecimiento de tallo y raíz de *Typha* spp. expuestas a aguas residuales más ácido cítrico **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 18. Contenido de clorofilas de *Typha* spp. expuestas a aguas residuales crudas con y sin ácido cítrico **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 19. Concentración de plomo y cadmio acumulado en el tallo y raíz *Typha* spp. expuesta Pb y Cd. **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 20. Porcentaje de remoción de plomo y cadmio por *Typha* spp..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 21. Determinación de índice de crecimiento de *Typha* spp. expuestas a Pb y Cd..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 22. Contenido de pigmentos de *Typha* spp. expuestas a Pb y Cd con y sin ácido cítrico..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 23. Diagrama de distribución de especies de Pb y ácido cítrico..... **¡Error! Marcador no definido.**

Figura 24. Muestras de agua residual de las etapas de la planta de tratamiento de aguas residuales. **¡Error! Marcador no definido.**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Plantas hiperacumuladoras de contaminantes recalcitrantes.....	18
Tabla 2. Concentraciones de Pb y Cd en los que se expusieron vitroplantas de <i>Typha</i> spp.....	42
Tabla 3. Tratamientos con metales en los que se expusieron plántulas de <i>Typha</i> spp.....	44
Tabla 4. Tratamientos con agua residual en los que se expusieron plántulas de <i>Typha</i> spp.....	44
Tabla 5. Proceso de temperatura para la digestión de muestras vegetales en horno de microondas.....	47
Tabla 6. Análisis fisicoquímico de aguas residuales de 3 sitios de muestreo durante el proceso de tratamiento de aguas residuales.....	49
Tabla 7. Efecto del ácido cítrico sobre la morfología de las raíces de <i>Typha</i> spp. expuestas a muestras de aguas residuales crudas.....	63
Tabla 8. Exposición de vitroplantas de <i>Typha</i> spp. a Pb y Cd en presencia y ausencia de ácido cítrico (mg·Kg ⁻¹).....	77

CAPÍTULO I

1.1 Introducción

El agua dulce es un recurso de vital importancia, que es clave para la salud humana, seguridad alimentaria y muchos aspectos más para el desarrollo sostenible (ONU, 2018). Por lo cual, el hombre ha sabido beneficiarse de este recurso empleándolo principalmente en actividades agrícolas, abastecimiento público, industrial y en la generación de energía eléctrica (CONAGUA, 2018). Sin embargo, al igual que otros recursos naturales, el agua se ha visto amenazada debido a la extracción excesiva y descargas de aguas residuales a los cuerpos lóticos. De acuerdo con el Banco Mundial (2020), del total de agua residual del mundo, el 80% se vierte al ambiente sin haber recibido un tratamiento adecuado. En América Latina y el Caribe, solo un 30 a 40 % de las aguas residuales de la región que se captan son tratadas, lo que ha provocado un aumento en la concentración de elementos tóxicos en el agua (Rodríguez, 2020).

De acuerdo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) vinculados al sector de agua y saneamiento, se busca el cumplimiento de objetivos como mejorar la calidad del agua e implementar una gestión integrada de los recursos hídricos.

Como una estrategia para llevar a cabo el cumplimiento de los ODS en el sector de agua se han aplicado operaciones como la reutilización y saneamiento adecuado del agua, que contribuyen significativamente a la reducción de contaminación (Koop y van Leeuwen, 2017). Sin embargo, el tratamiento convencional de las aguas residuales generalmente termina con un tratamiento secundario que no puede eliminar eficientemente todos los contaminantes que se encuentran en las aguas como metales pesados. Por lo cual, los efluentes tratados pueden ser una fuente de contaminantes persistentes (Voulvoulis, 2018). Para la reutilización del agua es necesario un tratamiento terciario que elimine los contaminantes adicionales.

Existen diversas opciones eficientes para el tratamiento de aguas contaminadas, como los métodos fisicoquímicos. No obstante, estos resultan ser muy costosos y consumen mucha energía (Chandra y Kumar, 2017). Por lo cual, una tecnología emergente en la restauración ambientes acuáticos es la fitorremediación, la cual ha ganado popularidad

por ser una tecnología no invasiva, relativamente barata y ser considerada como una tecnología “verde” (Peer *et al.*, 2006). La fitorremediación es una técnica empleada en la remediación *in situ* de suelos y cuerpos de agua contaminados, en la cual se utilizan plantas vivas para remover, degradar, inmovilizar, neutralizar o estabilizar contaminantes mediante procesos biológicos que desarrollan las mismas plantas o mediante procesos sinérgicos planta-microorganismo que se desarrollan en la rizósfera (Manahan, 2007). Una de las estrategias efectivas de la fitorremediación es la fitoextracción a través de la absorción y acumulación de metales en las diferentes partes de la planta, que posteriormente puede cosecharse y eliminarse del sitio contaminado a través de fitominería, que es la producción de una “cosecha” de un metal mediante el cultivo de plantas de alta biomasa (Brooks *et al.*, 1998; Peer *et al.*, 2006).

Dentro de las plantas conocidas por su capacidad de fitoextraer y acumular altas concentraciones de metales pesados se encuentran las plantas del género *Typha*. Dichos organismos vegetales crecen en cuerpos acuáticos y en sitios impactados por metales pesados. Algunos trabajos previos han demostrado que plantas de dicho genero tienen la capacidad *in situ* y *ex situ* para remover y acumular As, Cd, Pb, Ni, Cr, Zn, Mn y Fe, y que además son capaces de translocarlos hacia la parte aérea (Carranza-Álvarez *et al.*, 2008; Sasmaz *et al.*, 2008). Generalmente, los metales pesados forman complejos con compuestos presentes en el suelo, que son difíciles de que las plantas los integren. Por lo cual, el uso de ácidos orgánicos de bajo peso molecular es importante para alterar la actividad química y la disponibilidad de los metales, y de esta manera mejorar la fitoextracción. El ácido cítrico (AC) es un ácido orgánico, conocido por ser un agente capaz de mejorar la fisiología de las plantas cuando están expuestas a condiciones estresantes y se ha utilizado como una estrategia ambiental para aumentar la fitoextracción de metales pesados (Mallhi *et al.*, 2020).

Con base a lo anterior, en el presente proyecto, se evaluó el efecto que induce el AC sobre la tolerancia de *Typha* spp. ante aguas residuales y el efecto del AC en la absorción de Pb y Cd por dichas plantas.

1.2 Antecedentes

Estudios previos han demostrado la capacidad de plantas acuáticas para remover metales presentes en aguas residuales municipales e industriales, ejemplo de ello es el trabajo realizado por Arivoli *et al.*, (2015), quienes demostraron la viabilidad de humedales construidos para tratar metales pesados de efluentes industriales mediante el uso de *Typha angustifolia*, *Erianthus arundinaceus* y *Phragmites australis*. Sus resultados indicaron que en los humedales construidos eliminaron Fe, Cu, Mn, Zn, Ni y Cd, a concentraciones de 74, 80, 60, 70, 71 y 70 % respectivamente.

Por otro lado, Calheiros *et al.*, (2009) reportan en su estudio que *Typha latifolia* puede eliminar compuestos orgánicos de aguas residuales. *T. latifolia* eliminó hasta 88% de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO 5) (desde una entrada de 420 a 1000 mg L⁻¹) y 92% de la demanda química de oxígeno (DQO) (desde una entrada de 808 a 2449 mg L⁻¹) y de otros contaminantes, como el nitrógeno, que funcionan a tiempos de retención hidráulica de 2, 5 y 7 días. Asimismo, Calheiros *et al.*, (2008) indicaron que *T. latifolia* tiene la capacidad de germinar en efluentes con bajo nivel de tratamiento, sin embargo la planta alcanzó niveles de germinación más altos cuando se expuso a afluentes procedentes de la salida de humedales construidos.

De acuerdo con Carranza-Álvarez *et al.*, (2008), *T. latifolia* tiene la capacidad de extraer Pb, Cd, Cr, Mn y Fe de sus alrededores de agua; en dicho estudio se evaluaron las concentraciones de Pb, Cd, Cr, Mn y Fe en las hojas, tallo y raíz de los macrófitos acuáticos *Scirpus americanus* y *T. latifolia*, que se recolectaron de Tanque Tenorio, una laguna artificial altamente contaminada por aguas residuales municipales e industriales. Los resultados mostraron que *S. americanus* y *T. latifolia* tienen la capacidad de extraer Pb, Cd, Cr, Mn y Fe de sus alrededores de agua; en general, las raíces presentaron mayores concentraciones de metales pesados que el tallo y las hojas (Carranza-Álvarez *et al.*, 2008).

Otro estudio evaluó las capacidades de *T. latifolia* y *Phragmites australis* L. para el almacenamiento de metales pesados. Las muestras se estudiaron en cuatro cuencas de lagunas naturales interconectadas de un humedal de tratamiento construido y desarrollado como un sistema piloto integrado para el tratamiento de lixiviados en un

vertedero doméstico durante las cuatro estaciones del año. La eficiencia del sistema de lagunas se evaluó mediante mediciones de parámetros físicos y químicos durante un período de tres estaciones. Las concentraciones de anión / catión y metales pesados se tomaron muestras y se analizaron en agua que fluye dentro y fuera de la cuenca de la laguna. Simultáneamente, se recolectaron muestras de biomasa de caña y totora (raíces/ rizomas, brotes) tanto en la entrada como en la salida, y se determinaron las características de la biomasa. El promedio de biomasa aérea de *T. latifolia* y *P. australis* varió significativamente con variaciones estacionales. Las mayores concentraciones medias de metales pesados se encontraron en el tejido radicular de las plantas de las dos especies durante la temporada de primavera (Grisey *et al.*, 2012).

El humedal construido (CW) es una tecnología alternativa de bajo costo para tratar las aguas residuales. Este estudio se realizó para tratar conjuntamente el lixiviado de los vertederos y las aguas residuales municipales mediante el uso de un sistema CW. *T. domingensis* se trasplantó a un CW, que contiene dos capas de sustrato de adsorbentes, ZELIAC y zeolita. Las eficiencias de eliminación de los contenidos de color, DQO, amoníaco, níquel y cadmio fueron 90.3%, 86.7%, 99.2%, 86.0% y 87.1%, respectivamente. También se monitoreó la acumulación de Ni y Cd en las raíces y brotes de *T. domingensis*. El factor de translocación (TF) fue > 1 en varias réplicas. Por lo tanto, *Typha* se clasifica como una planta hiperacumuladora de Ni y Cd (Mojiri *et al.*, 2016).

Por último, Sasmaz *et al.* (2008), examinaron la absorción de algunos metales por *T. latifolia* y la transferencia de raíces a otras partes de la planta. La acumulación de Mn en *T. latifolia* puede sugerirse como una estrategia de tolerancia debido a que su factor de transferencia fue superior a 1.0. Los coeficientes de enriquecimiento en las hojas de *T. latifolia* fueron superiores a 1.0 para Zn y Mn y a menudo inferiores a 1.0 para otros metales. Del mismo modo, los coeficientes de enriquecimiento de todos metales, a excepción de Cr, en raíces de *T. latifolia* fueron superiores a 1,0. De forma tal que *T. latifolia* podría considerarse como un bioindicador o un bioacumulador para sedimentos y agua contaminada por metales (Sasmaz *et al.*, 2008).

Varios estudios han demostrado que el AC se ha utilizado como una estrategia ambiental para mejorar la fitoextracción de metales pesados (Blaylock *et al.*, 1997; Turgut *et al.*, 2003). Según Amir *et al.* (2020), la adición de AC mejora la fisiología de la planta, la actividad de las enzimas antioxidantes y la fuga de electrolitos en plantas de *Typha latifolia* expuestas a condiciones estresantes causadas por metales como Pb y Hg. Además, el AC incrementa la acumulación y concentración de estos metales en raíces, tallos y hojas.

Por otro lado, Ehsan *et al.* (2014), indicaron que el AC mejoró significativamente la acumulación y absorción de Cd en raíces, tallo y hojas de plantas de *Brassica napus*, además, el AC redujo la toxicidad del Cd, debido a que las plantas presentaron una reducción del estrés oxidativo y un aumento de su biomasa, pigmentos fotosintéticos y crecimiento.

1.3 Planteamiento del problema

En América Latina y el Caribe, solo un 30 a 40 % de las aguas residuales de la región que se captan son tratadas. En México, se trata un 57 % de las aguas residuales totales recolectadas a través del sistema de alcantarillado. El aumento en las actividades antropogénicas ha conllevado a que las aguas residuales presenten concentraciones más altas de metales, como Pb y Cd. Por lo cual se han aplicado tecnologías como la fitorremediación, a través de la fitoextracción, usando *Typha* spp. Sin embargo, esta técnica aún presenta algunas limitaciones como la fitotoxicidad a altas concentraciones de metales pesados o la saturación de las plantas al remover y acumular los contaminantes. Por ello, es necesario estudiar el efecto de algunos agentes químicos en el mejoramiento de la captación de metales por algunas especies vegetales.

1.4 Justificación

El ácido cítrico es un agente químico que se ha utilizado como una estrategia ambiental para aumentar la fitoextracción de metales pesados y mejorar la fisiología de las plantas cuando están expuestas a condiciones estresantes. Por lo cual, es importante evaluar el efecto del ácido cítrico en la capacidad de *Typha* spp. para remover metales y evaluar la tolerancia de *Typha* spp. a aguas residuales

1.5 Hipótesis y objetivos

1.5.1 Hipótesis

El ácido cítrico protege a *Typha* spp. de los efectos tóxicos inducidos por las aguas residuales. El ácido cítrico favorece la fitoextracción de metales pesados por *Typha* spp.

1.5.2 Objetivo general

Evaluar el efecto del ácido cítrico en la fitoextracción de metales por *Typha* spp. y su tolerancia a aguas residuales.

1.5.3 Objetivos específicos

1. Realizar el análisis fisicoquímico de aguas residuales obtenidas de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de Ciudad Valles, S.L.P., México.
2. Cuantificar la concentración de cadmio y plomo en las aguas residuales.
3. Establecer el cultivo *in vitro* de semillas de *Typha* spp. para generar vitroplantas.
4. Evaluar el efecto tóxico de las aguas residuales en el desarrollo de plántulas de *Typha* spp.
5. Evaluar el efecto del ácido cítrico sobre el efecto tóxico de las aguas residuales en el desarrollo de las plantas de *Typha* spp.
6. Evaluar el efecto del ácido cítrico en la absorción de plomo y cadmio por *Typha* spp.
7. Determinar el efecto del ácido cítrico en la fitotoxicidad de *Typha* spp. expuesta a soluciones de plomo más cadmio.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Disponibilidad de agua y factores que afectan la calidad.

De acuerdo con las Naciones Unidas, el agua es un recurso esencial para el desarrollo sostenible y es fundamental para el desarrollo socioeconómico, la producción de alimentos y energía, ecosistemas naturales y supervivencia humana (Naciones Unidas, 2021). Alrededor del 70% de la superficie de la tierra está cubierta por agua, de esta, el 97.5% se encuentra en océanos, y el 2.5% restante está en casquetes polares, por lo general, dicha cantidad de agua no está disponible para el uso humano. Se sabe que el agua dulce comprende menos del 1% en la superficie de la tierra (Luqman *et al.*, 2013). Reportes indican que solo el 0.01% del agua dulce está disponible para el uso humano (Hinrichsen y Tacio, 2002).

Aunque el porcentaje de agua disponible para el uso humano en el planeta es mínimo, existen muchos factores que son responsables de la contaminación de agua, la mayoría de estos factores abarcan actividades antropogénicas. Algunas de estas actividades son el incremento de la población global, la rápida urbanización, el aumento de prácticas agrícolas, la industrialización, la generación de energía, transporte, y el empleo de métodos inadecuados para tratar aguas residuales (Lestan *et al.* 2008). Se considera que la eliminación indiscriminada de desechos industriales, municipales y domésticos sobre ríos, arroyos, lagos, etc. es la principal fuente de contaminación del agua. Se ha estimado que diariamente se descargan alrededor de 2 millones de toneladas de aguas residuales y otros efluentes sobre aguas superficiales alrededor del mundo (Luqman *et al.*, 2013). De acuerdo con la UNESCO (2017), el 80% de las aguas residuales regresa al ecosistema sin tener un tratamiento adecuado o ser reutilizada.

2.2 Contaminantes del agua

De acuerdo con Wasewar *et al.* (2020), los contaminantes del agua pueden ser clasificados como: patógenos, sólidos suspendidos, nutrientes y contaminantes

agrícolas, térmicos, radioactivos, contaminantes orgánicos y contaminantes inorgánicos.

2.2.1 Patógenos

Los contaminantes clasificados como patógenos se refieren a los microorganismos con características perjudiciales que entran a los cuerpos de agua a través de aguas residuales municipales como fuente principal o de aguas residuales de industrias como los mataderos. Dentro del grupo de patógenos se encuentran principalmente los virus, bacterias y protozoos, que contribuyen a la contaminación de agua, 1) creando biomasa estéticamente desagradable, 2) generando metabolitos tóxicos y 3) causando enfermedades de transmisión directa por el agua, como el cólera, fiebre tifoidea, gastroenteritis, disentería, poliomielitis, infecciones cutáneas, neumonía, hepatitis infecciosa en humanos y cáncer gástrico (Brenniman, 2009; Ghangrekar, 2012). Los patógenos en agua además de afectar la salud de personas, dañan a los animales, plantas y otros microorganismos (Andueza, 2014).

2.2.2 Nutrientes y contaminantes agrícolas

Las escorrentías agrícolas, las aguas residuales de la industria de fertilizantes y las aguas residuales contienen altas concentraciones de nutrientes como nitrógeno y fósforo. Estas aguas proporcionan nutrientes a las plantas y pueden estimular el crecimiento de algas y otras malezas acuáticas en los cuerpos de agua receptores. Lo anterior ocasiona el deterioro del valor del cuerpo de agua (Knobeloch *et al.*, 2000). De acuerdo con la FAO (2018), la mayor fuente de contaminación del agua es la agricultura. A nivel mundial, el contaminante químico más común en acuíferos subterráneos son los nitratos, provenientes de la actividad agrícola. Además, la agricultura moderna es responsable de la contaminación con agroquímicos, materia orgánica, sedimentos y sales en los cuerpos de agua. Algunos datos destacados emitidos por la FAO indican que a nivel mundial las tierras agrícolas reciben anualmente cerca de 115 millones de toneladas de fertilizantes nitrogenados minerales, de los cuales un 35 % acaba en océanos (FAO, 2018). Además, se indica que el medio ambiente es rociado cada año a nivel global con 4,6 millones de toneladas de plaguicidas químicos. Por último, se estima que un 24 % de la superficie irrigada en

el mundo está afectada por la salinización. El agua contaminada por residuos agrícolas puede producir efectos directos como indirectos en la salud humana, según la OMS, los niveles de nitrógeno en el agua subterránea han aumentado en muchas partes del mundo como consecuencia de la "intensificación de las prácticas agrícolas" (OMS, 1993).

2.2.3 Sólidos suspendidos y sedimentos

Estos se componen de limo, arena y minerales erosionados de la tierra y aparecen en el agua a través de la escorrentía superficial durante la temporada de lluvias y a través de alcantarillas municipales provocando la sedimentación y reducción de la capacidad de almacenamiento de los embalses. Los altos niveles de sedimentación en ríos dan lugar a la perturbación física de las características hidráulicas del cauce causando graves efectos en la navegación, por la reducción de la profundidad y favorecer las inundaciones por la reducción de la capacidad del flujo de agua en la cuenca de drenaje (UFRGS, 1991). Por otro lado, la presencia de sólidos en suspensión produce un aumento en la turbidez, lo cual bloquea la penetración de la luz solar en el agua, necesaria para la fotosíntesis de las algas y plantas acuáticas enraizadas. La deposición de sólidos en los tramos inactivos del arroyo o el fondo del océano pueden perjudicar la vida acuática normal y afectar la diversidad del ecosistema acuático (Ghangrekar, 2012). La contribución de los sedimentos a la contaminación química está relacionada con el tamaño de las partículas y al volumen del carbono orgánico en partículas asociado con los sedimentos. Muchos de los contaminantes persistentes, bioacumulados y tóxicos, particularmente los compuestos clorados incluidos en muchos plaguicidas están fuertemente asociados con los sedimentos y en especial con el carbono orgánico transportado como parte de la carga de sedimentos de los ríos (Ongley, 1997).

2.2.4 Contaminantes térmicos

Se produce una contaminación térmica considerable debido a la descarga de agua caliente de plantas de energía térmica, plantas de energía nuclear e industrias en las que se utiliza agua como refrigerante. Debido a la descarga de agua caliente, la temperatura del cuerpo de agua aumenta, lo que reduce el contenido de OD del agua.

Esto afecta negativamente la vida acuática y altera el espectro de organismos que pueden adoptar para vivir a esa temperatura y nivel de OD (Semrany *et al.*, 2012).

2.2.5 Contaminantes radioactivos

Los materiales radiactivos que se originan en la minería y en el procesamiento de minerales se utilizan en investigación, agricultura, y actividades médicas e industriales. Estos materiales usan isótopos radioactivos como I-131, P-32, Co-60, Ca-45, S-35, C-14, mientras que las descargas de plantas de energía y reactores nucleares contienen isotopos radioactivos como Sr-90, cesio, Cs-137, plutonio Pu-248, uranio-238, uranio-235. Los contaminantes radioactivos presentan un peligro debido a la desintegración radiactiva, que emiten radiaciones ionizantes nocivas, como partículas alfa o beta, rayos gamma o neutrones (Barrera-Díaz *et al.*, 2009; Ghangrekar, 2012).

2.2.6 Contaminantes orgánicos

Los contaminantes orgánicos, considerados compuestos orgánicos biodegradables, pueden ser residuos que demandan oxígeno, entre los cuales se encuentran las aguas residuales domésticas y municipales. Dichos compuestos pueden ser degradados por la actividad bacteriana, misma que requiere del oxígeno disuelto (OD) en el agua para oxidar los compuestos orgánicos. Lo anterior conlleva al agotamiento del OD, contribuyendo fuertemente a la hipoxia en los cuerpos de agua, afectando de esta manera los ecosistemas acuáticos (Colt, 2006). La descarga de materia orgánica también aumenta el riesgo de eutrofización y proliferación de algas en lagos, embalses y zonas costeras (Wen *et al.*, 2017). Dentro de los contaminantes orgánicos también se encuentran compuestos orgánicos sintéticos (COS), estos contaminantes entran a los ecosistemas principalmente por actividades antropogénicas. Dentro de los COS se encuentran los contaminantes halogenados, hidrocarburos alifáticos y aromáticos, pesticidas sintéticos, detergentes sintéticos, aditivos alimentarios, productos farmacéuticos, insecticidas, pinturas, fibras sintéticas, plásticos, disolventes y compuestos orgánicos volátiles (COV) (Barrera-Díaz *et al.*, 2009). De acuerdo con Wen *et al.* (2017) la contaminación por materia orgánica está aumentando debido al incremento de la descarga de aguas residuales municipales e industriales, la

intensificación de la agricultura y la reducción de la capacidad de dilución de los ríos debido al cambio climático y la extracción de agua.

2.2.7 Contaminantes inorgánicos

Dentro del grupo de contaminantes inorgánicos, se encuentran los metales pesados y los metaloides, los cuales son preocupantes debido a su elevada toxicidad a bajas concentraciones. Los metales pesados pueden estar acomplejados o libremente disponibles para ser absorbidos por los organismos. Generalmente, los contaminantes inorgánicos son sensibles a los cambios en el pH y a las condiciones redox en el entorno del suelo (Kumar *et al.*, 2016). La Agencia de Protección Ambiental (EPA) presenta un listado de estos compuestos. arsénico (As), cadmio (Cd), cromo (Cr), plomo (Pb), hierro (Fe), manganeso (Mg), mercurio (Hg), nitrato (NO_3), níquel (Ni), nitritos (NO_2), fosfatos (PO_4^{3-}), fósforo (P), potasio (K), sodio (Na), Plata (Ag), Sulfato, talio (Tl), titanio (Ti), uranio (U), zinc (Zn) y muchos más. Dichos compuestos inorgánicos tienen la característica común de no ser biodegradables, por lo cual representa un amenaza directa o indirecta a los ecosistemas acuáticos y la salud humana (Ghangrekar, 2012).

2.3 Metales pesados

Los metales pesados (MP) se encuentran naturalmente en la corteza terrestre en diferentes niveles y concentraciones (Singh *et al.*, 2016). Algunos MP, en concentraciones bajas, son nutrientes esenciales que son requeridos para varias funciones bioquímicas y fisiológicas conocidas en la planta (p. Ej., Co, Cu, Cr, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Se y Zn) y otros tienen funciones biológicas desconocidas como el Cd, Pb, Hg (Muszyńska y Labudda, 2019). Aunque el término metales pesados aún no ha sido bien definido, generalmente se refiere a metales o metaloides que tienen una densidad relativamente alta que varía de 3.5 a $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Duffus, 2002). En las últimas décadas ha habido un aumento de actividades antropogénicas como la industrialización, urbanización, generación de energía, prácticas agrícolas y la quema de combustibles fósiles (Chibuike y Obiora, 2014), lo que ha resultado en una creciente preocupación ecológica y de salud pública mundial, ya que se ha reportado un aumento de concentraciones de MP en suelos y aguas que son consideradas dañinas para las

plantas, los animales y los seres humanos. La contaminación ambiental también puede ocurrir de manera natural por corrosión de metales, deposición atmosférica, erosión del suelo, lixiviación de metales, meteorización y erupciones volcánicas (Nriagu, 1989).

De acuerdo con Verma y Dwivedi (2013), los metales pesados son los principales contaminantes inorgánicos, que incluyen plomo, mercurio, cromo, vanadio, arsénico, cobre, níquel, cadmio, molibdeno y zinc, entre otros.

Como previamente se mencionó que, algunos metales pesados ejercen funciones bioquímicas y fisiológicas en plantas y animales, debido a que son constituyentes de la estructura de varias enzimas y juegan un papel importante en las reacciones de oxidación-reducción (Okereafor *et al.*, 2020). Sin embargo, altas concentraciones de metales pesados afectan la membrana celular, las mitocondrias, los lisosomas, el retículo endoplásmico, el núcleo y algunas enzimas implicadas en el metabolismo, provocan daños al ADN, cambios al ciclo celular, carcinogénesis y/o apoptosis (Tchounwou *et al.*, 2014). Debido a su alto grado de toxicidad, el As, Cd, Cr, Pb y Hg, se encuentran entre los metales prioritarios para la salud pública. Se sabe que inducen daños en múltiples órganos incluso a niveles de concentración muy bajos.

2.3.1 Cadmio sus características y efectos en la salud

El cadmio es un elemento metálico del grupo 12 (Zn, Cd, Hg) de la tabla periódica. Los compuestos formados a partir de cadmio suelen contener cadmio con una valencia de +2. Se encuentra naturalmente en bajas concentraciones ($0.1 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$) y generalmente combinado con zinc y plomo como minerales de sulfuro. La dispersión en el medio ambiente se produce a partir de múltiples fuentes, incluidos los fertilizantes fosfatados que contienen cadmio y la eliminación inadecuada de desechos electrónicos. Pueden producirse concentraciones elevadas en el aire, el agua y el suelo cerca de las fuentes de emisiones industriales, en particular las de las industrias de minería no ferrosa y refinación de metales. La galvanoplastia de cadmio sobre acero ha sido uno de los métodos utilizados para prevenir la corrosión. Las principales aplicaciones industriales de Cd involucran la producción de aleaciones, baterías níquel-plomo y pigmentos. Las nanopartículas derivadas de compuestos de cadmio se utilizan en paneles solares y otras aplicaciones electrónicas (Nordberg *et al.*, 2018).

El cadmio ha sido reconocido como un peligro para la salud ocupacional durante muchas décadas. Los riesgos para las poblaciones expuestas al medio ambiente se enfatizaron en la enfermedad de Itaiitai causada por la ingesta de arroz contaminado con cadmio (Hagino y Kono, 1955). La dieta es la principal fuente de exposición ambiental al cadmio en los no fumadores en la mayor parte del mundo. El cadmio está presente en prácticamente todos los alimentos, pero las concentraciones varían en gran medida, según el tipo de alimento y el nivel de contaminación ambiental (Järup y Åkesson, 2009).

De acuerdo con la OMS, el cadmio puede viajar largas distancias desde la fuente de emisión por transferencia atmosférica. Se acumula fácilmente en muchos organismos, en particular moluscos y crustáceos. Las concentraciones más bajas se encuentran en verduras, cereales y raíces. La exposición humana se produce principalmente por el consumo de alimentos contaminados, la inhalación activa y pasiva del humo del tabaco y la inhalación por parte de los trabajadores en una variedad de industrias (OMS, 2003).

Un número creciente de estudios ha demostrado efectos adversos tempranos para la salud a niveles mucho más bajos de exposición al cadmio de lo que se había anticipado anteriormente. La investigación se ha centrado en los efectos renales y óseos, pero estudios recientes también lo han asociado al de riesgo de cáncer con una exposición ambiental de bajo nivel. Aunque todavía existe un consenso de que el riñón es el órgano crítico, los efectos sobre los huesos se han demostrado que incrementan a niveles de exposición bajos similares a los de los primeros efectos renales (Buchet *et al.*, 1990).

De acuerdo con la NOM-127-SSA1-1994, que establece los límites permisibles de calidad de agua para uso y consumo humano, indica que el límite permisible de Cd es de ≤ 0.005 mg/L. Por otro lado, en algunos países de Europa y en Estados Unidos, la ingesta diaria de Cd es de aproximadamente $0.4 \mu\text{g/Kg/día}$. Además, la EPA ha establecido que la exposición a concentraciones de Cd de $0.04 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en el agua potable por hasta 10 días no causará efectos adversos en niños. Por último, la NOM-

002-ECOL-1996, establece que el límite máximo permisible de Cd en las descargas de aguas residuales a sistemas de alcantarillado es de 1 mg·L⁻¹.

2.3.2 Plomo sus características y efectos en la salud

El plomo (Pb) es un metal gris azulado presente en concentraciones mínimas en la corteza terrestre. Se encuentra naturalmente en el medio ambiente, sin embargo, las actividades antropogénicas como la quema de combustibles fósiles, la minería y la industria contribuyen a la liberación de altas concentraciones (Tchounwou *et al.*, 2014). El Pb tiene usos industriales (p. Ej., materiales de construcción, pinturas y gasolina), agrícolas y domésticos. Actualmente, el uso industrial del Pb se restringido principalmente a pinturas, productos cerámicos, calafateo y soldadura de tuberías (EPA, 2020).

La exposición al plomo ocurre principalmente a través de los sistemas respiratorio a través de inhalación de partículas de polvo o aerosoles que contienen Pb, y a nivel gastrointestinal por la ingesta de alimentos y / o agua contaminada. De acuerdo con Flora *et al.* (2006), los adultos pueden absorber del 35 al 50 % de Pb a través del agua potable. Se conoce que el Pb absorbido (ya sea inhalado o ingerido) se almacena en tejidos blandos. Los estudios de autopsia de humanos expuestos a Pb indican que el tejido hepático es el depósito más grande (33%), seguido de la corteza renal y la médula. A medida que ha aumentado la exposición ambiental al Pb, se han reconocido los efectos tóxicos del Pb en varios sistemas de órganos del cuerpo (Lin, 1994).

La OMS ha identificado al plomo como una de las diez sustancias químicas de mayor preocupación para la salud pública, que necesitan medidas para proteger la salud de los trabajadores, los niños y las mujeres en edad reproductiva. Los efectos adversos de Pb en niños se caracterizan por un coeficiente intelectual bajo, un desarrollo neuroconductual retrasado o deficiente, una agudeza auditiva disminuida, discapacidades del habla y el lenguaje, retraso del crecimiento, poca capacidad de atención. Para el caso de los adultos, los daños han sido a nivel reproductivo, disminución en el número de espermatozoides en los hombres y los abortos para el caso de las mujeres. Una amplia evidencia experimental en animales de laboratorio *in vivo* e *in vitro* apunta claramente a la hepatotoxicidad potencial resultante de la

exposición al Pb. Las alteraciones van desde simples alteraciones bioquímicas y estructurales hasta la caracterización molecular de la hiperplasia hepática o la proliferación de células hepáticas. Sin embargo, los limitados datos epidemiológicos impiden extrapolar estas observaciones de toxicología animal a efectos hepatotóxicos en humanos, y la posible contribución de tales efectos tóxicos a la morbilidad humana no está clara (Mudipalli, 2007).

De acuerdo con la NOM-127-SSA1-1994, que establece los límites permisibles de calidad de agua para uso y consumo humano, indica que el límite permisible de Pb en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ debe ser ≤ 0.025 . Por otro lado, la NOM-002- ECOL-1996, establece que el límite máximo permisible de Pb en las descargas de aguas residuales a sistemas de alcantarillado es de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La EPA ha establecido un valor de $0.015 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de plomo, como límite permisible para el agua de uso humano.

2.4 Fitorremediación

La Fitorremediación es una rama de la biorremediación que se basa en el uso de plantas para la remediación de sitios contaminados. Utiliza el potencial de las raíces de las plantas para absorber nutrientes. Las diversas especies de plantas empleadas en esta técnica tienen la capacidad de acumular una amplia gama de contaminantes. Bajo ciertas condiciones, esta técnica puede ser más eficiente y rentable que las técnicas de tratamiento convencional (Mustafa y Hayder, 2021).

La fitorremediación aplica un conjunto de tecnologías que utilizan las plantas para reducir, eliminar, degradar o inmovilizar compuestos tóxicos en el medio ambiente mediante procesos biológicos que desarrollan las mismas plantas o mediante procesos sinérgicos planta-microorganismo que se desarrollan en la rizosfera, con el objetivo de restaurar las áreas a una condición en la que sean utilizables (Manahan, 2007; Peer *et al.*, 2006). Esta tecnología se emplea para eliminar metales pesados, radionúclidos, nutrientes (nitrato, fosfato, etc.), solventes, explosivos, petróleo crudo y contaminantes orgánicos, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y pesticidas de aguas residuales y suelos (Anand *et al.*, 2019).

La fitorremediación de sitios contaminados ha ganado popularidad como una tecnología no invasiva, y relativamente barata en comparación con las estrategias de

rehabilitación alternativas que implican excavación, remoción o estabilización y conversión química *in situ* (Peer *et al.*, 2006). La fitorremediación es una tecnología sostenible para la limpieza de contaminantes recalcitrantes de entornos perturbados. Las estrategias de fitorremediación tienen una serie de ventajas prometedoras en comparación con otras técnicas de remediación.

Los factores que influyen en la fitorremediación para absorber contaminantes a través de sus raíces y transferirlos a los brotes son los siguientes: la concentración disponible de contaminantes para que la planta pueda absorberlos; y la tasa de transformación de sustancias tóxicas en menos tóxicas. Otros factores que también influyen en la fitorremediación son la longitud de las raíces, los tipos y concentración de los metales, las condiciones fisicoquímicas del suelo y la interacción de las plantas y los microorganismos asociados del suelo (Naila *et al.*, 2019).

2.4.1 Mecanismos de fitorremediación

Las especies vegetales fitorremediadoras desarrollan diversos mecanismos para extraer los contaminantes desde la rizosfera, y para translocarlos a la raíz o tejidos aéreos. Por ello, es importante definir cada uno de los mecanismos para aclarar y comprender los procesos que ocurren en las plantas, qué sucede con el contaminante, órganos vegetales involucrados, y estrategias para lograr una fitorremediación efectiva. Las diferentes formas de fitorremediación se pueden aplicar a contaminantes específicos o medios contaminados y pueden requerir diferentes tipos de plantas (Pivetz, 2001). Los mecanismos de fitorremediación se describen a continuación.

Fitovolatilización, es un mecanismo de fitorremediación que se aplica principalmente a compuestos orgánicos volátiles (COV's) o contaminantes inorgánicos como arsénico (As), mercurio (Hg) y selenio (Se) (Bizily *et al.*, 1999; Moreno *et al.*, 2008; Guarino *et al.*, 2020). La fitovolatilización existe en dos formas: fitovolatilización directa e indirecta. La fitovolatilización directa utiliza las plantas para absorber los contaminantes del suelo, los transforma en compuestos volátiles, y posteriormente los liberan a la atmósfera por transpiración de las hojas o la difusión radial a través del tallo (Limmer y Burken, 2016). En la fitovolatilización directa las plantas producen cambios físicos en

la superficie, que conduce a la reducción de contaminantes en el suelo y agua (Chandra y Kumar 2018).

Por otro lado, la fitovolatilización indirecta se refiere al flujo de contaminantes orgánicos volátiles desde el subsuelo, por el efecto de las raíces de las plantas como aumento en la permeabilidad del suelo, descenso en el nivel freático, transporte químico a través de la redistribución hidráulica o fluctuaciones en el nivel freático (Limmer y Burken, 2016).

Algunos estudios han demostrado que, en la fitovolatilización, algunos contaminantes tóxicos de As, Hg y Se pueden ser convertidos en una forma volátil menos tóxica (Nedjimi, 2021).

Rizofiltración, es una técnica de fitorremediación, en la que se adsorben los contaminantes presentes alrededor de la raíz (rizosfera) o se absorben en el tejido radicular, se concentran y se precipitan (Abdullahi, 2015). Las plantas emplean su sistema radicular largo y fibroso cubierto con pelos radiculares con amplia superficie para proporcionar una remediación eficaz (Grzegórska *et al.*, 2020). La rizofiltración reduce la movilidad de los contaminantes y evita su migración al agua subterránea. Es eficaz y de bajo costo cuando se aplica ante bajas concentraciones de contaminantes y a un gran volumen de agua (Chandra y Kumar 2018). Una planta adecuada para la rizofiltración debe tener raíces de rápido crecimiento y contar con la capacidad de eliminar contaminantes de la solución durante un tiempo prolongado (Chandra y Kumar 2018). La rizofiltración funciona a través de varios procesos físicos y bioquímicos, como la adsorción, precipitación y bioacumulación. La eficiencia de este mecanismo reside en la eficiencia de las raíces para liberar exudados de raíz (metabolitos secundarios) en forma de azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos grasos, esteroides, factores de crecimiento, nucleótidos, flavonas, enzimas, entre otros (Sharma y Juwarkar, 2015). Los exudados de raíz alteran las condiciones geoquímicas del suelo, como el pH, lo que conduce que los metales pesados se acumulen en la planta y posteriormente se precipiten en la superficie de la raíz, de esta forma se minimiza el movimiento de los metales (Yan *et al.*, 2020).

Fitoextracción, es la técnica que se aplica para eliminar contaminantes del medio ambiente, lo que implica la absorción del contaminante a través de las raíces, seguida de la acumulación en este mismo tejido o bien en las partes aéreas, con la posterior cosecha de la planta y ocasional eliminación de la biomasa (Sharma y Juwarkar, 2015). La fitoextracción generalmente se aplica a la eliminación de metales (Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn), metaloides (As, Se), radionucleidos (^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{234}U , ^{238}U) y no metales (B), debido a que estos contaminantes generalmente no se degradan dentro de la planta. De acuerdo con Sharma y Juwarkar (2015), la fitoextracción no se ha considerado para la absorción de contaminantes orgánicos, dado que la planta puede metabolizarlos o volatilizarlos, de esta manera se evita la acumulación de contaminantes dentro de la planta. En los últimos años, la fitoextracción se considera como la técnica de fitorremediación más importante para la recuperación de metales pesados y metaloides del suelo contaminado (Sarwar *et al.*, 2017).

Las plantas ideales para ser utilizadas en la fitoextracción deben ser tolerantes a niveles altos de concentración de metales, tener una tasa de crecimiento rápido y alta producción de biomasa, acumular altos niveles de metales en partes cosechables, ser ampliamente distribuidas y con un sistema de raíz profundo, ser resistente a enfermedades, de fácil cultivo, recolección y procesamiento y ser repulsivas para herbívoros para evitar así, la contaminación en la cadena alimentaria (Chandra y Kumar 2018).

El potencial de la fitoextracción se puede determinar a través del Factor de Bioconcentración (FBC) y el Factor de Translocación (FT). El FBC indica la capacidad de una planta para acumular metales, se define como la relación entre la concentración de metal en la raíz y la concentración en suelo o agua. Por otro lado, el FT indica la capacidad de una planta para trasladar metales desde la raíz al brote. El FT se define como la concentración de metal en el brote entre la concentración de metal en la raíz. Una planta con valores de FBC y FT >1 tiene el potencial para usarse en la fitoextracción (Yoon *et al.*, 2006). El FBC y FT son calculados con las siguientes ecuaciones:

$FBC = (\text{concentración de metal en la raíz de la planta}) / (\text{concentración de metal en suelo o agua})$

$FT = (\text{concentración de metal en el brote de la planta}) / (\text{concentración de metal en la raíz})$

De acuerdo con Salt et al. (1995) existen dos estrategias de fitoextracción: 1) fitoextracción continua y 2) fitoextracción asistida por quelatos. La fitoextracción continua se refiere a la habilidad natural de las plantas para acumular, translocar y resistir grandes concentraciones de metales durante todo el ciclo de crecimiento. En la fitoextracción asistida por quelatos, se emplean agentes quelantes que son capaces de solubilizar y formar complejos con metales pesados, así como promover la translocación desde las raíces a las partes aéreas. Esta estrategia se basa en el hecho de que la aplicación de quelatos metálicos mejora significativamente la acumulación de metales en plantas. Se ha propuesto la adición de agentes quelantes para mejorar la capacidad de acumulación de metales y la velocidad de absorción de plantas (Chen y Cutright, 2001).

Fitoestabilización, es la estrategia ambiental en la que las plantas son usadas para contener los contaminantes en el sitio, mediante modificaciones de las condiciones químicas, biológicas y físicas del suelo, sedimentos, lodos o humedales (Pivetz, 2001; Grzegórska *et al.*, 2020). La fitoestabilización reduce el transporte de los contaminantes mediante varios procesos como adsorción, absorción y acumulación por raíces, precipitación, acomplejación de la valencia del metal en el suelo dentro de la zona de raíces (Grzegórska *et al.*, 2020). La fitoestabilización se ha centrado en la contaminación de metales, sin embargo, esta estrategia puede ser aplicada a contaminantes orgánicos, debido a que algunos contaminantes orgánicos pueden adherirse a la lignina (Pivetz, 2001). Los metales presentes en la zona de raíz se pueden estabilizar cambiando de un estado de oxidación soluble a uno insoluble, a través de la precipitación mediada por las raíces. Ejemplo de ello es que las raíces que pueden precipitar el plomo como fosfato de plomo, que es insoluble. El pH del suelo y agua se puede modificar por la producción de CO₂ por microbios que degradan los exudados de las raíces, probablemente cambiando la solubilidad y movilidad de los

metales e impactando la disociación de compuestos orgánicos. De acuerdo con la Pivetz (2001), la fitoestabilización eficaz requiere un conocimiento específico de la química de la zona de raíz, los exudados de las raíces, los contaminantes, y los fertilizantes o enmiendas del suelo. Se puede producir una fitoestabilización en el agua en la que las raíces de las plantas liberan exudados vegetales como fosfatos (Dushenkov *et al.*, 1995). Las características apropiadas para que una planta sea utilizada en la fitoestabilización de contaminantes son: tolerancia a altos niveles de contaminantes, alta producción de biomasa de raíz y crecimiento rápido para inmovilizar los contaminantes, y así como la alta capacidad de retención de los contaminantes en las raíces (Pivetz, 2001).

Para mejorar la eficiencia de la fitoestabilización se han empleado compuestos orgánicos e inorgánicos al medio contaminado. Estos compuestos pueden alterar la especiación de los contaminantes, reducir la solubilidad y disponibilidad al cambiar el valor del pH y el estado redox del medio. La aplicación de enmiendas aumenta el contenido de materia orgánica y nutrientes esenciales en el suelo y mejora las propiedades fisicoquímicas y biológicas, lo cual beneficia la colonización de las plantas y mejora la retención de agua (Yan *et al.*, 2020).

Fitodegradación, es el proceso en el que los contaminantes captados por las plantas son descompuestos (Greipsson, 2011). La fitodegradación incluye la absorción, metabolización, y degradación de contaminantes dentro de la planta, o la degradación de contaminantes en el suelo, sedimentos, lodos, aguas subterráneas o aguas superficiales por enzimas producidas y liberadas por las plantas. Las enzimas producidas por las plantas, es decir, deshalogenasas, peroxidasas, lacasas, oxigenasas, nitrilasa y nitroreductasas son las responsables de catalizar y acelerar la degradación de los contaminantes orgánicos (Schnoor *et al.*, 1995; Grzegórska *et al.*, 2020). Los contaminantes orgánicos se descomponen a formas moleculares más simples, que se incorporan a los tejidos vegetales para ayudar al crecimiento de las plantas o posiblemente se incorporan como lignina o celulosa (Chandra y Kumar 2018). Los contaminantes sujetos a fitodegradación son compuestos orgánicos como: explosivos, solventes clorados, herbicidas, insecticidas y nutrientes orgánicos.

Recientemente se han llevado a cabo estudios de los procesos de fitodegradación referentes al tratamiento de soluciones acuosas contaminadas con productos farmacéuticos. Dichos estudios implican principalmente la fitodegradación de antibióticos y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (Gujarathi *et al.*, 2005).

La remediación de un sitio a través de fitodegradación depende de la absorción directa de los contaminantes y la acumulación en la vegetación. La absorción directa de sustancias químicas a través de las raíces depende de la eficiencia de absorción, tasa de transpiración y la concentración de sustancias químicas en el suelo o agua. Además, la eficiencia de absorción depende de la especiación química, las propiedades fisicoquímicas y las características de las plantas, mientras que la tasa de transpiración depende del tipo de planta, área foliar, nutrientes, humedad del suelo, temperatura, condiciones del viento y humedad relativa (Chandra y Kumar 2018).

2.4.2 Mecanismo de fitorremediación de plomo

El plomo forma varios complejos con los componentes del suelo y solo una pequeña fracción del plomo está presente en esos complejos que lo hacen fitodisponible. El Pb no tiene función esencial en las plantas, sin embargo, puede ser absorbido del suelo a través de las raíces, por lo cual puede ingresar a la cadena alimentaria (Kumar *et al.*, 2017). Parte del plomo presente en suelo se adsorbe en las raíces y enseguida se une a los grupos carboxilo del ácido urónico del mucílago, o directamente a los polisacáridos de la superficie celular de la rizodermis. Una vez adsorbido en la rizodermis, el plomo puede ingresar pasivamente a las raíces con el agua que se traslada. La absorción del plomo se lleva a cabo mayormente en los ápices de las raíces, donde las células son jóvenes y tienen paredes celulares delgadas que facilitan la absorción (Seregin *et al.*, 2004). En adición, el área apical es donde el pH de la raíz es más bajo, lo cual aumenta la solubilidad del plomo. La absorción de plomo a través de las raíces se produce por la vía apoplástica o a través de canales iónicos. La absorción de plomo depende del funcionamiento de la bomba de H⁺/ATPasa, que mantiene un potencial negativo en la membrana de las células de la rizodermis. El plomo puede ser absorbido por los canales permeables al Ca²⁺, que es la vía principal por la que ingresa a las raíces. Estudios en plantas transgénicas han demostrado que

el plomo también puede entrar a las raíces a través de canales iónicos activados por nucleótidos cíclicos o mediante transportadores de cationes de baja afinidad (Wang *et al.*, 2007).

Una vez que el plomo ingresa a las raíces la mayor parte que es absorbida (aproximadamente 95%) se acumula en las raíces y una fracción pequeña se traslada a las partes aéreas. Este fenómeno en plantas es específico para plomo. Al entrar en la raíz, el plomo se mueve a través de la vía del apoplasto y sigue la corriente de agua hasta llegar a la endodermis (Lane y Martin, 1977). Algunas razones por las que el plomo se acumula principalmente en las células de la raíz son: a) debido al bloqueo de las bandas de Caspary, dentro de la endodermis, b) al secuestro en las vacuolas de las células rizodermicas, y corticales por la formación de complejos, c) inmovilización de pectinas cargadas negativamente dentro de la pared celular, d) acumulación en las membranas plasmáticas, e) unión a fitoquelatinas, glutatión y aminoácidos, f) precipitación de sales de plomo insolubles en los espacios intracelulares y g) síntesis de osmolitos (Kumar *et al.*, 2017).

Posterior al transporte por la vía del apoplasto, el plomo es bloqueado en la endodermis por la banda de Caspary, y debe seguir la vía del simplasto. Se sabe que altas concentraciones de plomo destruyen la barrera física formada por la banda de Caspary. En las células de la endodermis la mayor parte del plomo es secuestrada o excretada por los sistemas de desintoxicación de las plantas. La traslocación del plomo a partes aéreas de las plantas aumenta en presencia de quelantes orgánicos o ciertas especies de microorganismos. El transporte de los metales desde las raíces hacia las partes aéreas se lleva a cabo por la vía de la xilema y cuando ocurre probablemente es impulsado por la transpiración (Liao *et al.*, 2006). Aunque no existen muchos estudios sobre la cinética del Pb en las células foliares, es probable que una vez que el Pb está en el citoplasma de las células de las hojas sea quelado por fitoquelatinas (PC), glutatión (GSH) o compuestos orgánicos. Una vez formados los complejos de metal con PC, éstos pueden transportados a la vacuola a través de transportadores y finalmente ser almacenados. Los complejos de metales también pueden ser

almacenados con los componentes de la pared celular. Aunque los mecanismos de Pb aun no son estudiados específicamente.

2.4.3 Mecanismo de fitorremediación de cadmio

El cadmio existe en el suelo como catión divalente Cd^{2+} . La concentración de Cd está equilibrada con los complejos de Cd disueltos y el Cd adsorbido en la fase sólida del suelo. Algunos iones de Cd se adsorben en la pectina y celulosa de las células de la raíz. Otros iones se absorben mayormente en el ápice de la raíz por la vía del apoplasto y se transportan por esta vía hasta encontrarse con polímeros impermeables como la banda de Caspary (Laporte *et al.*, 2013) (Figura 3). El Cd^{2+} también puede absorberse por la vía del simplasto a través de canales iónicos para Ca^{2+} (ANN4 y GLR3), por el transportador regulado por hierro IRT1, por el transportador regulado por zinc ZNT1 o por proteínas de transporte NRAMP (proteínas de macrófagos asociadas a la resistencia natural) (Eide *et al.*, 1996; Pence *et al.*, 2000; Thomine *et al.*, 2000; Perfus-Barbeoch *et al.*, 2002).

La absorción de Cd^{2+} por las células de la raíz reduce la concentración de iones en la superficie de la raíz generando un gradiente que permite la difusión de Cd hacia la raíz. El Cd se transporta por advección, es decir, se transporta con el flujo de agua causado por la transpiración de la planta. Desde el apoplasto, los iones atraviesan la membrana celular a través canales iónicos, transportadores o proteínas de transporte para pasar a la vía simplástica. Una vez en el citosol, los iones de Cd forman complejos con compuestos orgánicos como el glutatión (GSH), y enseguida se forma el complejo bisglutinationato-Cd, $GS_2-Cd(II)$. El $GS_2-Cd(II)$ interactúa con la fitoquelatina sintasa (PCS) que desencadena la síntesis de fitoquelatina y la formación de complejos de bajo peso molecular fitoquelatina-Cd (II), $PC-Cd(II)$. Los complejos $PC-Cd(II)$ se transportan a la vacuola a través de transportadores ABC para formar compuestos con Sulfuros ($PC-Cd-S$) (Rauser, 1995).

El Cd también puede formar complejos con ligandos de oxígeno, es decir con compuestos orgánicos como, malato, citrato y oxalato (Sterckeman y Thomine, 2020). El Cd se puede transportar a la vacuola por medio de un antiportador-cation/ H^+ denominado CAX (Intercambio Cationico, por sus siglas en inglés), transportadores

HMA (asociados a metales pesados, por sus siglas en inglés) y transportadores MRP (Morel *et al.*, 2009; Shen *et al.*, 2011). Los complejos de Cd en el citosol también pueden entrar a través de proteínas de transporte y transportadores a la mitocondria y al aparato de Golgi. En la vacuola, el Cd está quelado principalmente por compuestos orgánicos como las fitoquelatinas.

Por otro lado, una fracción del Cd se transporta por la vía de los plasmodesmos para pasar a través de las células y cargarse en los vasos de la xilema a través de los transportadores HMA, proteínas CAL1 o mediante un sistema de transporte activo, contra su gradiente electroquímico (Luo *et al.*, 2018). Una vez que el Cd está en la xilema puede formar complejos con ligandos que contienen grupos sulfhídricos, N u O, que junto con los iones libres son transportados a las partes aéreas de las plantas impulsados por la transpiración (advección) (Sterckeman y Thomine, 2020). Durante el transporte, los iones pueden interaccionar con las paredes celulares de los vasos de la xilema quedando adsorbidos; también pueden migrar a través de las paredes de las células de la xilema hacia las células del tallo. Después del transporte en la xilema los iones minerales se descargan de la xilema para ser distribuidos en los otros tejidos foliares mediante la red ramificada de venas mayores y venas menores que cruzan la lámina de la hoja. Enseguida el Cd puede ser transportado desde la xilema hasta las células de las hojas a través de la vía del simplasto. Una vez que el Cd está en el citosol de las células de las hojas, el Cd generalmente es quelado por ligandos orgánicos y migra de una célula a otra (Shen *et al.*, 2011). Algunos iones libres o complejos de Cd ingresan a través de transportadores como HMA, CAX o ABC a los orgánulos, principalmente a la vacuola donde se almacenan como quelatos. Los conjugados de metales también pueden ser secretados al apoplasto mediante un proceso de exocitosis de vesículas vacuolares, una vez en el exterior, interaccionan con los componentes de la pared que pueden ser proteínas, celulosa, hemicelulosa, lignina, xilanas etc., donde se acumulan.

2.5 Cultivo de tejido vegetal

El cultivo de tejidos vegetales se refiere al conjunto de técnicas que permiten el establecimiento, mantenimiento y desarrollo de cualquier parte de una planta, a partir de una célula hasta un organismo completo, bajo condiciones controladas y axénicas. De esta manera se establece un control de los procesos fisiológicos, morfogénéticos y bioquímicos (Moctezuma-Granados, 2017). En años recientes el cultivo de *in vitro* de plántulas se ha convertido en una estrategia integral en los avances de investigación de la ciencia de las plantas (Pérez-Clemente y Gómez-Cadenas, 2011). El cultivo de tejido vegetal permite un monitoreo cercano y una manipulación precisa del crecimiento y desarrollo de la planta. Las herramientas basadas en cultivos *in vitro* han permitido que se obtenga un entendimiento más específico de la fisiología y bioquímica en plantas cultivadas en condiciones ambientales estresantes.

Dentro de las ventajas que ofrece el tejido de cultivo vegetal se encuentra, que se necesita poco espacio para cultivar las plantas, lo cual permite un control muy riguroso del entorno físico y de los nutrientes (Shibli *et al.*, 1992). Además, se puede eliminar o mantener un control de las interacciones órgano-órgano y planta-ambiente, y el nivel de estrés se puede controlar de manera precisa (Stephen *et al.*, 2002). De igual forma, el sistema de propagación *in vitro* es una herramienta fundamental para entender la relación planta-contaminante, ya que se puede predecir la respuesta de las plantas al medio ambiente y también sirve para desarrollar protocolos para plantas con elevada capacidad de fitorremediación (Morales-Rubio *et al.*, 2016).

Los sistemas de propagación *in vitro* son adecuados para conocer la respuesta de las especies vegetales ante los diversos ambientes estresantes a los que son expuestos, debido a que es más fácil realizar y controlar las pruebas de los bioensayos *in vitro*. A través de esta herramienta es posible conocer la respuesta de las plantas ante la exposición a metales (Perales-Aguilar *et al.*, 2020). Bajo condiciones controladas y en espacios reducidos.

2.6 Compuestos químicos quelantes

Algunos compuestos químicos se han utilizado para mejorar los procesos de fitorremediación, porque modulan principalmente el pH, las condiciones redox y las especies químicas presentes en la rizosfera.

Se han utilizado diversos compuestos quelantes químicos que mejoran la disponibilidad de metales pesados, facilitando así su captación por las plantas (Hasan *et al.*, 2019). Algunos compuestos que mejoran la absorción de metales pesados incluyen ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), glutatión exógeno, compuestos de azufre, óxido nítrico, entre otros. Es importante emplear estrategias que aumenten la eficiencia de la fitorremediación de metales pesados. Estas estrategias pueden ser mediante el uso de químicos quelantes.

2.6.1 Ácido cítrico

El ácido cítrico (AC) es un ácido orgánico tricarbóxico débil (Figura 5) con fórmula $C_6H_8O_7$, con un peso molecular de 192.12 g/mol, se encuentra frecuentemente en la naturaleza. Se puede encontrar como producto del metabolismo en muchos organismos, en el ciclo del AC. Además, forma parte de algunas frutas, siendo un componente especial en los cítricos, a los cuales les confiere su característica ácida (Ovando-Franco, 2012). El AC también puede ser excretado por las plantas a través de la raíz en situaciones de estrés provocadas por metales pesados. Se sabe que el AC es capaz de formar complejos con iones metálicos, por lo que puede ser útil para la fijación, movilización y fitoextracción de metales pesados (Chen *et al.*, 2003). Varios estudios han demostrado que el AC se ha utilizado como una estrategia ambiental para mejorar la fitoextracción de metales pesados (Blaylock *et al.*, 1997; Turgut *et al.*, 2003). Según Amir *et al.* (2020), la adición de AC mejora la fisiología de la planta, la actividad de las enzimas antioxidantes de *Typha latifolia* expuestas a condiciones estresantes causadas por metales como Pb y Hg. Además, en esta misma investigación, se menciona que la adición de AC aumenta aún más la acumulación y concentración de estos metales en raíces, tallos y hojas.

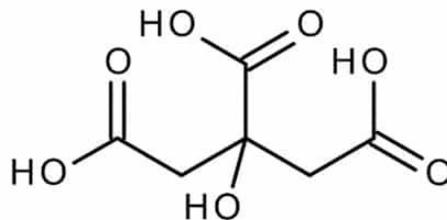


Figura 1. Estructura química del ácido cítrico

Por otro lado, Ehsan et al. (2014), demostraron que el AC mejoró significativamente la acumulación y absorción de Cd en raíces, tallo y hojas de plantas de *Brassica napus*, además, el AC redujo la toxicidad del Cd, debido a que las plantas presentaron una reducción del estrés oxidativo y un aumento de su biomasa, pigmentos fotosintéticos y crecimiento. Para el caso del Cobre (Cu), Zaheer et al. (2015) y Sallah-Ud-Din et al. (2017) reportaron un aumento en la acumulación y absorción en tejidos de *B. napus* y *L. minor* L. respectivamente, cuando se agrega AC al medio. Además, los efectos de toxicidad causados por Cu en *B. napus* y *L. minor* se disminuyeron por la adición de AC. Los estudios también han demostrado que el AC mejora la fitoextracción de níquel (Ni) cuando las concentraciones de este metal aumentan en las hojas, tallos y raíces de las plantas de *Mentha piperita*. Además, el tratamiento con AC mejoró significativamente las respuestas bioquímicas y fisiológicas de plantas de *M. piperita* expuesta a níquel en comparación con los tratamientos sin AC (Khair et al., 2020). En conjunto, estudios previos indican que el ácido cítrico puede ser una estrategia útil para aumentar la fitoextracción de metales en suelos y agua.

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Análisis fisicoquímico de muestras de aguas residuales

Las muestras de aguas residuales fueron proporcionadas en el mes de abril del año 2020 por una planta tratadora de aguas residuales (PTAR) de Cd. Valles, S.L.P. (Birmania I). Se recolectaron muestras homogéneas de aproximadamente 1 L en frascos de polietileno. Las muestras se tomaron de tres etapas del proceso de tratamiento de la PTAR: 1) entrada, 2) reactores de lodos y 3) salida. Posteriormente se procedió a la realización del análisis fisicoquímico determinando Solidos totales disueltos (STD) y conductividad eléctrica empleando un medidor de campo (*Marca HANNA instruments*, HI991301). La temperatura y el pH se midieron utilizando un potenciómetro (*Marca HANNA instruments* HI2211). Los nutrientes como NO₃-N, K, Ca y Mg, se midieron empleando un fotómetro de análisis de nutrientes (*Marca HANNA instruments* HI83325-01).

3.1.1. Dureza total en aguas residuales

Se determinó la dureza total, la dureza debida al Calcio y la dureza debida a Magnesio. Para lo cual se siguió el protocolo establecido por la NMX-AA-072SCFI-2001, que establece el método de análisis para la determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Inicialmente, las muestras se llevaron a un tratamiento de digestión, debido a que las muestras contenían materia orgánica. Posterior a la digestión, el pH de las muestras se ajustó a un valor de 9 empleando una disolución de amoniaco.

La determinación de dureza total se realizó por titulación complejométrica empleando solución estándar de Sal disódica de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0.01 M (*Marca CTR scientific*, CTR 02460) y el indicador Negro de Eriocromo T (NET) en condiciones de pH mayor a 10. Posteriormente, se realizó la titulación con EDTA hasta observar un cambio en la coloración de la muestra (rojizo a azul). Se registraron los mL de EDTA gastados. Dicho procedimiento se realizó por triplicado para cada

muestra de las fases de la PTAR. Para calcular el valor de dureza total se multiplicaron los mL de EDTA gastados por el factor obtenido a partir de la siguiente ecuación.

$$Factor = \frac{(MT) * (mmol CaCO_3) * (1 * 10^6)}{Vm} = 40$$

Donde:

MT = Concentración del titulante EDTA.

Vm = Volumen empleado de la muestra.

El análisis de dureza debida a Calcio (Ca) se realizó siguiendo el mismo procedimiento realizado para la dureza total, utilizando el indicador murexida y una solución buffer de NaOH 0.1 N (*Marca CTR scientific*, CTR 03108) con un valor de pH mayor que 12. Para la determinación de dureza debida al Magnesio (Mg) se realizó una diferencia entre el valor de dureza total menos el valor de dureza debida al Ca.

3.2 Cuantificación de los metales en aguas residuales por espectrofotometría de absorción atómica

Para determinar la concentración de metales presentes en el agua residual, se realizó un proceso de digestión ácida en autoclave (*Marca Felisa*, modelo FE-399) de acuerdo con el protocolo establecido por la NMX-AA-051-SCFI-2001.

Una vez realizada la digestión en las aguas residuales se cuantificó concentración de Pb y Cd por Espectrofotometría de Absorción Atómica utilizando el método de Horno de grafito (EAA-HG). Se midió la concentración de ambos metales. Los estándares se elaboraron a partir de una solución stock grado absorción atómica certificada (*Marca RICCA CHEMICAL*, Cd CAT. No. ACD1KN-100, Pb CAT. No. APB1KN-100).

El equipo de EAA fue calibrado y operado para el análisis a una longitud de onda de 228.8 nm. Se tomó como ajuste aceptable para validar la calibración un valor de $R^2 \geq 0.995$ y un porcentaje de recuperación igual o mayor del 90%.

3.3 Material vegetal

3.3.1 Colecta y asepsia de semillas de *Typha* spp.

Se colectaron semillas de *Typha* spp., provenientes de la inflorescencia de la especie vegetal de plantas adultas ubicadas en humedal natural en el municipio de San Vicente Tanc., S.L.P. Las semillas fueron transportadas en bolsas de papel al laboratorio de Investigación y se sometieron a un proceso de lavado y agitación con agua destilada para eliminar el vilano. Posteriormente, se realizó el proceso de asepsia.

Para el proceso de asepsia, las semillas de *Typha* spp. se colocaron en un tubo cónico de 50 mL, se adicionó solución fungicida (Captan), AgNO₃ al 0.5 %, bactericín al 5%, cloro al 10 %, Tween al 10 % y etanol al 70 % (Moctezuma-Granados *et al.*, 2017). Por último, en la campana de flujo laminar con luz UV (*Marca ESCO*) se realizaron tres lavados con agua destilada estéril, agitando las semillas por 5 minutos por cada lavado y decantando el agua residual.

3.4 Preparación de medios de cultivo

Se empleó el medio de cultivo comercial MS (Murashige & Skoog, 1962, Phytotechnology®), disolviendo 4.43 g de medio, enriquecido con 15 g / L de sacarosa comercial. El pH fue ajustado entre valores de 5.7 a 6.8 con NaOH o HCl 1 N. El medio de cultivo se colocó sobre una placa de calentamiento y se adicionaron 4.4 g / L de agar plant, se mezcló hasta disolver totalmente el agar, evitando que el medio llegara a ebullición. Finalmente se vertieron 100 mL del medio en los frascos de polipropileno de 1 L y se llevaron a esterilización en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

3.5 Establecimiento del cultivo *in vitro* de *Typha* spp.

Las semillas desinfectadas se tomaron con pinzas de metal, y se sembraron sobre la superficie de medios de cultivo Murashige & Skoog- basal medium (MS). Los frascos con medio de cultivo se taparon y se sellaron. Los frascos se etiquetaron y se colocaron en el cuarto de cultivo bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo (24 °C y 16 / 8 hrs de luz / oscuridad) por un periodo de 2 meses, hasta que las plantas alcanzarán un diámetro aproximado de 15 cm de su parte aérea y 5 cm de sus raíces. Se seleccionaron plántulas que no presentaran contaminación por hongos u oxidación en su hojas o tallos.

3.6 Características de desarrollo de *Typha* spp. en aguas residuales crudas y aguas residuales estériles

Se colocaron 100 mL de agua residual cruda y agua residual estéril de cada etapa de la PTAR (Entrada, Reactor de lodos y Salida) en frascos de vidrio de 1 L. En cada frasco se colocaron cuatro vitroplantas de *Typha* spp. de 15 cm de altura. Cada tubo se consideró como una unidad experimental. Las plántulas en estas condiciones de cultivo se mantuvieron durante 15 días en el cuarto de cultivo. Como control se utilizaron plántulas expuestas a medio Hoagland's a una dilución de 1/40 (Miranda y Quiroz, 2013) (Figura 10).

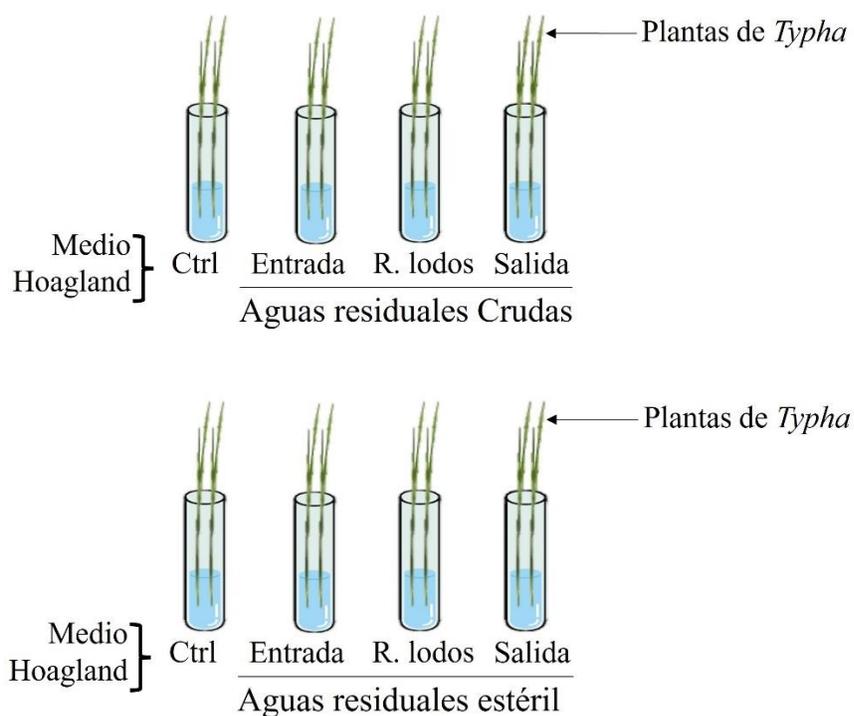


Figura 2. Modelo experimental de plántulas de *Typha* spp. expuestas a aguas residuales crudas y estériles.

Al inicio y final del experimento se registró el pH, así como la forma y aspecto tanto de las hojas como de las raíces de las plantas. Además, se evaluó el índice de crecimiento

y se tomó un fragmento de tejido aéreo al final del experimento para determinación de clorofila a, b y total.

3.6.1 Características de desarrollo de *Typha* spp. en aguas residuales crudas con adición de ácido cítrico

Se colocaron 100 mL de agua residual cruda de cada etapa de la PTAR en frascos de vidrio de 1 L más la adición de AC 5 mM. En seguida se ajustó el pH a 6.0 con un potenciómetro (*HANNA instruments* HI 2211). En cada frasco se colocaron 4 plántulas de *Typha* spp. de 15 cm de altura provenientes del cultivo *in vitro*. Las plántulas en estas condiciones de cultivo se mantuvieron durante 15 días en el cuarto de cultivo. Como control se utilizaron plántulas expuestas a medio Hoagland's a una dilución de 1/40 más AC 5 mM a un pH de 6.0 (Amir *et al.*, 2020). Al final del experimento se evaluó el índice de crecimiento y se tomó un fragmento de tejido aéreo para determinación de clorofila a, b y total.

3.7 Vitroplantas de *Typha* spp. expuestas a solución de Pb y Cd

Para determinar bajo condiciones controladas la remoción de Pb y Cd por *Typha* spp., se prepararon 100 ml de medio nutritivo Hoagland's a una dilución de 1/40 con distintas concentraciones de mezcla de Pb²⁺ y Cd²⁺ como se muestra en la Tabla 2:

Tabla 2. concentraciones de Pb y Cd en los que se expusieron vitroplantas de *Typha* spp.

Metales (mg·L ⁻¹)	Control	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Pb	0	1	5	10
Cd	0	0.5	2.5	5

El pH de las soluciones con metales se ajustó a un valor de 5.7. La fuerza iónica se ajustó con NaNO₃ 0.05 M (A.C.S. Fermont). Las soluciones se prepararon por triplicado en frascos de vidrio de 1 L.

En cada frasco se colocaron cuatro plántulas de *Typha* spp. de 15 cm de altura, provenientes del cultivo *in vitro*. Cada frasco se consideró como unidad experimental y contó con tres repeticiones por cada concentración de metales. Las plántulas en estas condiciones de cultivo se mantuvieron durante 15 días en el cuarto de cultivo, y

3.8 Evaluación de los parámetros de fitotoxicidad de *Typha* spp. desarrollada en soluciones de Pb y Cd y aguas residuales

Se evaluó el índice de crecimiento (IC) y el contenido de clorofila para determinar fitotoxicidad en plántulas de *Typha* que se expusieron a aguas residuales crudas como a soluciones de metales sintéticas. Dichos parámetros se usaron para determinar el efecto del AC en la tolerancia y fitotoxicidad de las plantas.

3.8.1 Índice de crecimiento de *Typha* spp.

Después de los 15 días de exposición a los tratamientos (Tabla 3 y 4) las plantas fueron retiradas, se pesaron y se midieron las raíces y tallos para determinar el índice de crecimiento.

Tabla 3. Tratamientos con metales en los que se expusieron plántulas de *Typha* spp.

Metal (mg·L ⁻¹)	Control ^a	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3
Pb	0	1	5	10
Cd	0	0.5	2.5	5
Pb + AC ^b	0 + AC	1 + AC	5 + AC	10 + AC
Cd + AC ^b	0 + AC	0.5 + AC	2.5 + AC	5 + AC

^a: Medio Hoagland's dilución 1/40,

^b: ácido cítrico (5 mM).

Tabla 4. Tratamientos con agua residual en los que se expusieron plántulas de *Typha* spp.

Control ^a	Entrada	Reactor de Lodos	Salida
Control + AC ^b	Entrada + AC	Reactor de Lodo + AC	Salida + AC

^a: Medio Hoagland's dilución 1/40,

^b: ácido cítrico (5 mM).

Esta determinación se realizó considerando el tamaño inicial y al final de la experimentación de las raíces y tallos de las plantas. Una vez realizadas las mediciones se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de Crecimiento} = \frac{\text{talla final}}{\text{talla inicial}}$$

Si el valor de IC es mayor que 1, refiere a que la plántula tuvo un crecimiento, lo cual indica tolerancia al tratamiento. Sin embargo, si el valor de IC es menor que 1, refiere que la plántula no presentó crecimiento, lo cual es indicativo de un daño.

3.8.2 Determinación de clorofila a, b y total de *Typha* spp.

Posterior a los 15 de exposición de las plantas de *Typha* a los tratamientos descritos en la Tabla 3 y 4, se determinó la concentración de clorofila a, b y total de acuerdo con el método propuesto por Arnon (1949). Para ello, se utilizó una sección de hoja de cada una de las vitroplantas colectadas (1 mg de cada una). En un cuarto oscuro, las hojas se trituraron en un mortero (colocado en una bandeja de hielo para evitar la evaporación), utilizando 8 mL de acetona al 100%; se trituró y posteriormente se filtró, utilizando una bomba de vacío y un matraz kitazato. La solución obtenida se colocó en un tubo cónico de 15 mL etiquetado y cubierto con papel aluminio para evitar la exposición a la luz, y se aforó a 10 mL. Finalmente, se midió la absorbancia de cada solución filtrada mediante espectrofotometría UV-Visible a una longitud de onda de 661.6, 644.8 y 652 nm, utilizando como blanco acetona al 100 %. Se calculó el porcentaje de clorofila a, b y total contenida por cada gramo de la planta. Para calcular los valores de clorofila a y b se siguió con la ecuación establecida por Lichtenthaler (1987), cuando se usa acetona al 100%.

$$\text{Clorofila } \mathbf{a}: (11.24) \times A_{661.6} - (2.04) \times A_{644.8}$$

$$\text{Clorofila } \mathbf{b}: (20.13) \times A_{644.8} - (4.19) \times A_{661.6}$$

$$mg \text{ clorofila } \mathbf{total} \text{ en } g \text{ muestra} = \frac{A (27.8)(mL \text{ de extracción})}{(g \text{ muestra}) (1000)}$$

Donde:

A = es la absorbancia de la muestra

27.8 = Coeficiente de Absorción (Suma de los coeficientes de Clorofila a y b)

1000 = Factor de Dilución

mL de extracción = mL que se obtuvieron al extraer con acetona

g muestra = peso utilizado de la muestra

3.9 Digestión ácida del tejido radicular y aéreo de vitroplantas de *Typha* spp.

Una vez finalizado el experimento donde se expuso *Typha* a concentraciones de metales (Pb + Cd y Pb + Cd + AC), se aplicó un proceso de desorción de metales, en el cual se eliminó el metal adsorbido en la superficie de las raíces y tallos de las plántulas. Para ello, la raíz y el tallo de cada plántula expuesta al tratamiento de metales se sumergieron cinco veces en una solución de EDTA (0.1 M). Las plántulas se seccionaron en raíz y tejido aéreo y se sometieron a un proceso de secado durante 12 horas a 70° C en estufa de convección. El material se cortó en porciones muy pequeñas con ayuda de tijeras y se mantuvieron bajo el abrigo del polvo y la luz.

Posteriormente, el tejido vegetal se sometió al proceso de digestión ácida asistida por microondas (closed-vassel, Multiwave PRO, Anton Para, Austria). Se pesaron 3 mg del tejido vegetal y se colocaron dentro de un tubo (TFM y PTTE) de 100 mL de capacidad. Enseguida se adicionaron 7 mL de HNO₃ concentrado y 1 mL de HCl concentrado y se colocaron dentro del sistema de digestión asistida por microondas. Los pasos para la rampa de temperatura se muestran en la Tabla 5. Las soluciones se colocaron en un tubo cónico de 15 mL y se aforaron a un volumen de 15 mL con agua destilada. Finalmente se cuantificó el contenido de metales (Cd y Pb) por espectrofotometría de Absorción atómica.

Tabla 5. Proceso de temperatura para la digestión de muestras vegetales en horno de microondas.

Pasos	Temperatura (°C)	Tiempo (mm:ss)
Rampa de temperatura	80	05:00
Mantener la temperatura	80	05:00
Rampa de temperatura	140	05:00
Mantener la temperatura	140	05:00
Rampa de temperatura	220	05:00
Mantener la temperatura	220	05:00
Enfriamiento	70	25:00

3.10 Digestión ácida del medio de cultivo

Durante el tiempo de tratamiento de las plántulas *Typha* spp. en el cuarto de crecimiento y en presencia de soluciones de Pb y Cd, se colectaron muestras del medio de cultivo los días 3, 6, 9, 12 y 15. Las muestras se tomaron empleando micropipetas, bajo condiciones estériles, en una campana de flujo laminar con luz ultravioleta (ESCO laminar Flow Cabinet). Se tomaron 0.5 mL de los medios de cultivo y se adicionaron 2 mL de HNO₃ al 50 %, dilución (1:4) en tubos cónico de 15 mL. Posteriormente, se realizó la digestión en autoclave (Felisa, Modelo FE-399, serie 1311120) a 121 °C, durante 30 minutos.

3.11 Elaboración de curva estándar de los metales por espectrofotometría de absorción atómica

Se elaboraron las curvas de calibración de plomo y cadmio, con cinco puntos a partir de una solución stock de grado absorción atómica certificada (*Marca RICCA CHEMICAL*, Cd CAT. No. ACD1KN-100, Pb CAT. No. APB1KN-100). Los estándares preparados fueron de 0.1, 0.3, 0.5, 1, 2.5 y 5 mg/L, para Cd y 0.3, 0.5, 1, 2.5 y 10 mg/L para Pb.

Los estándares utilizados se aforaron a 100 mL empleando matraces volumétricos certificados clase A de acuerdo con el estándar ASTM E542 y micropipetas de 20-200 μL y 100-1000 μL (*Marca Research Plus*).

3.12 Análisis estadístico

Se realizaron las pruebas de Shapiro-Wilk y Lilliefors para determinar la normalidad de los datos analizados. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor y de dos factores, seguido de un análisis post-hoc empleando la prueba Tukey para tratar datos paramétricos, donde un valor de $p < 0.05$ indicaba diferencias significativas. Por otro lado, para tratar los datos no paramétricos se llevó a cabo la prueba de Kruskal Wallis. Los valores obtenidos para cada ensayo realizado fueron analizados con el programa estadístico STATISTICA 8.0, para la construcción de gráficos se empleó el software SIGMAPLOT y para determinar las diferencias significativas entre los datos se empleó el software SAS System.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados de los experimentos realizado en el proyecto de tesis, y se presentan en dos etapas: la primera contempla el análisis fisicoquímico del agua residual empleada en la experimentación, así como de la tolerancia de vitroplantas de *Typha* spp. a dichas aguas residuales, y la cuantificación de plomo y cadmio (metales detectados en dichas aguas residuales). Como segunda etapa se evaluó la capacidad de las vitroplantas en la remoción de plomo y cadmio de soluciones sintéticas. En ambas condiciones se evaluó el efecto del ácido cítrico en la fitoextracción de plomo y cadmio, y se determinaron como parámetros fitotóxicos el índice de crecimiento y la concentración de clorofila.

4.1 Características fisicoquímicas de agua residual de las 3 etapas de tratamiento

Por lo cual es posible que la concentración traza de Cd detectada en las aguas residuales se deba a la liberación del metal por las actividades antropogénicas previamente mencionadas o a la lixiviación de suelos fertilizados por escorrentía que finalmente se mezcla con las aguas residuales urbanas. La descripción de cada parámetro fisicoquímico analizado se presenta en el anexo 1.

Por último, de acuerdo con los resultados obtenidos del análisis fisicoquímico y en comparación con los criterios ecológicos establecidos con las normas oficiales mexicanas, internacionales y extranjeras vigentes, se considera que el agua residual que se trata y se libera de la PTAR cuenta en su mayoría, con condiciones ideales para ser liberada al medio ambiente. Sin embargo, dado que estas aguas son mezcladas con aguas superficiales que abastecen de agua potable a la población de Ciudad Valles, S.L.P., es importante monitorear constantemente la concentración de contaminantes en diferentes épocas del año, dado que la composición puede variar dependiendo de las actividades antropogénicas que se realizan en la región.

4.2 Efecto fitotóxico de plántulas de *Typha* spp. expuestas a aguas residuales estériles y aguas residuales crudas

4.2.1 Establecimiento del cultivo *in vitro* de *Typha* spp.

Para evaluar la tolerancia de las *Typha* spp. a las aguas residuales, primero se estableció el cultivo *in vitro* de esta especie vegetal a través del cultivo de semillas, siguiendo el protocolo de Moctezuma-Granados (2017). Para la desinfección de semillas se empleó fungicida Captan al 1% y bactericín al 5%. Se ha reportado que dichos agentes son muy eficientes para la desinfección de explantes provenientes de campo (Pichereaux *et al.*, 2016). De igual forma se empleó hipoclorito de sodio (NaClO) que es efectivo para desinfección de explantes de especies de cactáceas, herbáceas y plantas acuáticas (de la Rosa-Carrillo *et al.*, 2012), Se usó AgNO₃ al 0.5% y etanol al 70%, debido a que son agentes germicidas y desinfectantes (Sánchez-Saldaña y Saenz, 2005). Además, se ha demostrado que el etanol puede destruir la membrana celular y desnaturalizar las proteínas de las bacterias, interfiriendo en última instancia en el metabolismo y produciendo la lisis celular (McDonell y Russell, 1999).

El sistema de tejido de cultivo vegetal ha sido utilizado para estudiar bajo condiciones controladas la remoción de Cd, Mn y Pb por *Typha latifolia* y *T. domingensis* (Moctezuma-granados, 2017; Ponce-Alonso, 2017; Morón-Hernández, 2019; Wong-Arguelles, 2020; Urbina-López, 2021).

4.2.2 Determinación de índice de crecimiento

Con la finalidad de determinar la tolerancia de las plántulas de *Typha* spp. a aguas residuales crudas, se diseñaron dos condiciones experimentales para exponer las vitroplantas: a) aguas residuales estériles y b) aguas crudas. La condición del agua residual estéril se propuso para eliminar la presencia de patógenos en los tubos de cultivo, y para poder determinar así, solo el efecto de los agentes químicos presentes en el agua cruda sobre la adaptación de las plántulas de *Typha* spp.

Las vitroplantas de *Typha* spp. utilizadas contaban con un tamaño promedio de 15 cm al inicio del experimento, se midió la longitud inicial de su tallo y raíz, y se expusieron a aguas residuales de las tres fases de la PTAR, a una temperatura y fotoperiodo (24°C

y 16/8 hrs de luz / oscuridad) por un mes. Posterior al tratamiento, se midió la longitud final de los tallos y las raíces. Con los valores de las longitudes iniciales y finales se determinó el índice de crecimiento.

Estos resultados sugieren que las plantas de *Typha* spp. podrían tolerar la exposición a aguas residuales, sin mostrar efectos nocivos en su crecimiento.

4.2.3 Determinación de clorofila

El objetivo de realizar el presente experimento fue evaluar el daño que las aguas residuales causan a nivel fisiológico, es decir en concentración de clorofila, sobre las vitroplantas de *Typha* spp. Los pigmentos fotosintéticos (clorofila a, b) se extrajeron del tejido vegetal con acetona al 100% a través de maceración. El contenido de los pigmentos se cuantificó utilizando un espectrofotómetro UV-visible.

Se observó que las aguas residuales crudas ejercieron un daño significativo sobre el contenido de clorofilas de las plántulas. Se obtuvieron mejores resultados con agua residual cruda que agua residual estéril.

4.3 Efecto del ácido cítrico en la tolerancia y fitotoxicidad de *Typha* spp. en aguas residuales

Una vez que se determinó la tolerancia de las vitroplantas en las AR's se realizó nuevamente un experimento de tolerancia ante las mismas, pero en esta ocasión únicamente se utilizaron AR crudas y se adicionó como agente químico el ácido cítrico (AC), para determinar si este último tenía un efecto en el incremento de la tolerancia de las plántulas de *Typha* spp. Es importante mencionar que, en la literatura existe únicamente un trabajo donde evalúan el efecto del AC sobre plantas expuestas a aguas residuales crudas. Unos de los aportes del presente trabajo es enriquecer el conocimiento científico con los resultados novedosos aquí presentados.

4.3.1 Determinación de índice de crecimiento

El AC no produce efectos significativos en el crecimiento del tallo de plántulas expuestas a las diferentes AR. Aunque tampoco inhibe su crecimiento, dado que permite que las plantas mantengan su creciendo.

4.3.2 Determinación de clorofila en *Typha* spp. expuesta a aguas residuales con adición de ácido cítrico

De acuerdo con los resultados que se presentan, se puede considerar que el AC mejoró la concentración de los pigmentos en plántulas expuestas a aguas residuales.

El análisis de la tolerancia de las vitroplantas ante los diferentes tipos de aguas residuales demostró que *Typha* spp. es tolerante a diferentes condiciones de estrés, y puede mostrar un patrón de crecimiento normal en diferentes condiciones ambientales. En donde se demostró que la adición de ácido cítrico mejoró la apariencia física de las plantas y la tolerancia a las aguas residuales como se observó con el IC y el contenido de clorofila.

Es importante mencionar que, el AC es un sustrato del ciclo de Krebs, por lo cual se puede considerar que el aumento en el contenido de clorofila en plantas expuestas a AR con AC se debió al incremento en el metabolismo de la planta, es decir, la vía del ciclo de Krebs se vio mejorada por una adición exógena del sustrato AC. Estudios muestran que hay un aumento en la actividad fotosintética en las plantas a las que se aplica AC (Maqbool *et al.* 2018).

4.4 Fitoextracción de Pb y Cd por vitroplantas de *Typha* spp.

Debido a que se detectaron concentraciones de metales pesados (Pb y Cd) en el análisis fisicoquímico de las AR se decidió exponer plántulas de *Typha* spp. ante mezclas de diferentes concentraciones de Pb²⁺ y Cd²⁺ con la finalidad de evaluar la capacidad de las vitroplantas en la remoción de dichos metales, y determinar el efecto fitotóxico que los metales ejercen sobre las plántulas bajo condiciones controladas en presencia y ausencia del ácido cítrico.

4.4.1 Cuantificación de Pb y Cd en tallo y raíz de vitroplantas de *Typha* spp.

Se evaluó la capacidad de extracción de Pb y Cd por *Typha*, mediante su exposición a soluciones de mezcla (Pb + Cd) y su cuantificación a nivel de raíz y tallo. La concentración de Cd disminuyó conforme aumentó la concentración de metales en las

soluciones. Hubo una concentración significativamente mayor de Pb en tallo que de Cd. Lo que indica que *Typha* spp. absorbió y translocó más Pb que Cd.

Dichos resultados son relevantes dado que se favoreció la acumulación de los metales en el tejido aéreo que a nivel de raíz. Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que Pb fue mayormente captado en tallo y raíz que el Cd.

4.4.2 Cuantificación de Pb y Cd en el medio de desarrollo de vitroplantas de *Typha* spp.

Para complementar los resultados de la capacidad de fitoextracción de las plántulas, se tomaron de la solución contenido Pb y Cd. Se cuantificó la concentración de metales remante en la solución, es decir, la concentración que no fue absorbida.

Los resultados anteriores indican que el porcentaje de remoción de las vitroplantas se redujo cuando fueron expuestas a altas concentraciones de metales. Además, el plomo se removió más que el cadmio.

4.4.3 Determinación de índice de crecimiento

Bajas concentraciones de Pb y Cd promueven un mayor crecimiento de vitroplantas, en contraste, altas concentraciones de Pb y Cd reducen su crecimiento.

Typha spp. puede absorber mayores concentraciones de Pb y de Cd a concentraciones bajas que a concentraciones altas tanto en sus tallos como en sus raíces. Estos resultados se pueden deber a que las plantas absorbieron los metales como cualquier microelemento esencial ya que eran concentraciones mínimas, sin embargo, a concentraciones altas las plantas detectaron la toxicidad y desequilibrio iónico, por lo que mostraron una disminución en su respuesta metabólica limitando la absorción de los metales.

Los resultados también indican que hubo una concentración significativamente mayor de Pb que de Cd en tallo y raíz, es decir, *Typha* spp. absorbió y translocó más Pb que Cd.

Los resultados también demuestran que *Typha* spp. presentó un mayor porcentaje de remoción de Pb y Cd cuando se expuso a soluciones con bajas concentraciones de

metales. El porcentaje de remoción disminuía significativamente al aumentar la concentración de metales en la solución.

En el análisis realizado para determinar toxicidad de los metales sobre las vitroplantas de *Typha* spp. se observó que bajas concentraciones de Pb y Cd promueven un mayor crecimiento de vitroplantas y altas concentraciones de Pb y Cd lo reducen.

4.5 Fitoextracción de Pb y Cd por vitroplantas de *Typha* spp. con adición de ácido cítrico

4.5.1 Cuantificación de Pb y Cd acumulado en tejido vegetal de *Typha* con adición de ácido cítrico

Se observa que el Pb y el Cd sin adición de AC mostraron una tendencia, en la que la concentración de dichos metales en tallo y raíz disminuyó conforme aumentó la concentración de metales en la solución. Adicionar AC a las soluciones con metales, las vitroplantas no acumularon Pb en tallo en ningún tratamiento. Estos resultados indican que la absorción de plomo por *Typha* spp. fue limitada cuando se adicionó AC al medio.

Para el Cd, las concentraciones significativamente más altas en tallo se encontraron en vitroplantas expuestas a la solución con menores concentraciones de metales. Las concentraciones de Cd en tallo y raíz disminuyeron significativamente cuando se aumentó la concentración de metales en la solución. Al adicionar AC a las soluciones con metales, la concentración de Cd en la raíz aumentó significativamente, respecto a las vitroplantas a las que no se adicionó AC. Los resultados anteriores indican que el AC mejora significativamente la absorción de cadmio en las raíces de *Typha* spp. pero inhibe la absorción de plomo.

4.5.2 Determinación de clorofila en *Typha* spp. expuesta a metales con adición de ácido cítrico

Para evaluar el efecto de AC en la toxicidad de *Typha* ante Pb y Cd se realizó la determinación de pigmentos fotosintéticos como clorofila a, clorofila b y clorofila total en plántulas de *Typha* spp. expuestas a diferentes soluciones de Pb y Cd en mezcla en presencia y ausencia de AC. Plántulas expuestas a Pb y Cd sin AC el contenido de clorofila a, clorofila b y clorofila total se reduce conforme aumenta la concentración de los metales, demostrándose que hay una reducción significativa en plántulas expuestas a las concentraciones más altas de metales respecto al control.

Para las plántulas expuestas a metales con adición de AC, se observa que el contenido de clorofilas aumenta conforme aumenta la concentración de metales. Los resultados de nuestro trabajo indican que el AC puede revertir el daño fitotóxico ocasionado por metales y mejorar el contenido de clorofila en las plantas.

Los resultados que se presentan en este trabajo indican que el AC mejora significativamente la absorción de cadmio en las raíces de *Typha* spp. Además, los rasgos fisiológicos fueron mejorados por la adición exógena de AC. Por ello, se cree que se vio reducida la concentración de Pb y Cd con la adición de AC.

El ácido cítrico puede revertir el daño fitotóxico ocasionado por metales y mejorar el contenido de clorofila en las plantas.

REFERENCIAS

- Abdellah Akhkha, Ebtessam Salem Al-Radaddi & Abdul Khaliq Al-Shoaibi (2019) The impact of treated and untreated municipal sewage water on growth and physiology of the desert plant *Calotropis procera*, *Journal of Taibah University for Science*, 13:1, 746-754, DOI: [10.1080/16583655.2019.1605650](https://doi.org/10.1080/16583655.2019.1605650)
- Abdel-Shafy, H. y Mansour, M.S.M. (2018). Phytoremediation for the Elimination of Metals, Pesticides, PAHs, and Other Pollutants from Wastewater and Soil. In: *Phytobiont and Ecosystem Restitution*, Springer, 101-136. Doi: [10.1007/978-981-13-1187-1_5](https://doi.org/10.1007/978-981-13-1187-1_5).
- Abdullahi, M. S. (2015). Chapter 18 - Soil Contamination, Remediation and Plants: Prospects and Challenges. *Soil Remediation and Plants*, 525-546. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799937-1.00018-8>
- Abou-Elwafa, S.F., Amin, A.E.E.A.Z. y Shehzad, T., (2019). Genetic mapping and transcriptional profiling of phytoremediation and heavy metals responsive genes in sorghum. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 173, 366e372. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.022>
- Acosta-Zamorano, D., Macías-Carranza, V., Mendoza-Espinosa, L. y Cabello-Pasini, A. (2013). Effect of treated wastewater on growth, photosynthesis and yield of Tempranillo Grapevines (*Vitis vinifera*) in Baja California, Mexico. *Agrociencia*, 47(8).
- Afshan, S., Ali, S., Bharwana, S. A., Rizwan, M., Farid, M., Abbas, F., Ibrahim, M., Mehmood, M. A. y Abbasi, G.H. (2015) Citric acid enhances the phytoextraction of chromium, plant growth, and photosynthesis by alleviating the oxidative damages in *Brassica napus* L. *Environ Sci Pollut Res* 22(15):11679–11689. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4396-8>
- Akhkha, A., Al-Radaddi, E. S. y Al-Shoaibi, A. K. (2019). The impact of treated and untreated municipal sewage water on growth and physiology of the desert plant *Calotropis procera*, *Journal of Taibah University for Science*, 13:1, 746-754, DOI: 10.1080/16583655.2019.1605650.
- Alonso-Castro, A. J., Carranza-Álvarez, C., Alfaro-De La Torre, M. C., Chavez-Guerrero, L. y García-De La Cruz, R. F. (2009). Removal and Accumulation of Cadmium and

- Lead by *Typha latifolia* Exposed to Single and Mixed Metal Solutions. *Arch Environ Contam Toxicol*, 57:688–696. DOI 10.1007/s00244-009-9351-6.
- Amir, W., Farid, M., Ishaq, H. K., Farid, S., Zubair, M., Alharby, H. F., Bamagoos, A. A., Rizwan, M., Raza, N., Hakeem, K. R. y Ali, S. (2020). Accumulation potential and tolerance response of *Typha latifolia* L. under citric acid assisted phytoextraction of lead and mercury. *Chemosphere*, 257. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127247>.
- Anand, S., Kumar Bharti, S., Kumar, S. y Barman, S. (2019). Phytoremediation of Heavy Metals and Pesticides Present in Water Using Aquatic Macrophytes. In: Phyto and Rhizo Remediation. 89-119. DOI:[10.1007/978-981-32-9664-0_4](https://doi.org/10.1007/978-981-32-9664-0_4).
- Andersson, J. L., Bastviken, S. K., & Tonderski, K. S. (2005). Free water surface wetlands for wastewater treatment in Sweden: Nitrogen and phosphorus removal. *Water Science and Technology*, 51(9), 39–46. <https://doi.org/10.2166/wst.2005.0283>
- Andresen, E., Kappel, K., Stärk, H-J., Riegger, U., Borovec, J., Mattusch, J., Heinz, A., Schmelzer, C. E. H., Matoušková, S., Dickinson, B., Küpper, H., (2016). Cadmium toxicity investigated at the physiological and biophysical levels under environmentally relevant conditions using the aquatic model plant *Ceratophyllum demersum*. *New Phytologist*, 210(4): 1244-1258. <https://doi.org/10.1111/nph.13840>
- Andueza, F. D. (2014). Microbiología del agua. Facultad de Farmacia y Bioanálisis Universidad de los Andes Mérida. Venezuela.
- Arazi, T., Sunkar, R., Kaplan, B. y Fromm, H., (1999). A tobacco plasma membrane calmodulin-binding transporter confers Ni²⁺ tolerance and Pb²⁺ hypersensitivity in transgenic plants. *Plant J.* 20, 171–182. doi:<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3113x.1999.00588.x>
- Arena, C., Figlioli, F., Sorrentino, M.C., Izzo, L.G., Capozzi, F., Giordano, S., Spagnuolo, V., (2017). Ultrastructural, protein and photosynthetic alterations induced by Pb and Cd in *Cynara cardunculus* L., and its potential for phytoremediation. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.015>.
- Arivoli, A., Mohanraj, R., & Seenivasan, R. (2015). Application of vertical flow constructed wetland in treatment of heavy metals from pulp and paper industry wastewater.

- Environmental Science and Pollution Research*, 22(17), 13336–13343.
<https://doi.org/10.1007/s11356-015-4594-4>
- Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24:1–15.
- Arroyo, P., Ansola, G., & De Luis, E. (2010). Effectiveness of a full-scale constructed wetland for the removal of metals from domestic wastewater. *Water, Air, and Soil Pollution*, 210(1–4), 473–481. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0272-9>
- Bahadur, Bir; Venkat Rajam, Manchikatla; Sahijram, Leela; Krishnamurthy, K. V. (2015). Plant Biology and Biotechnology Phytoremediation: General Account and Its Application. , 10.1007/978-81-322-2283-5(Chapter 34), 673–684. doi:10.1007/978-81-322-2283-5_34
- Banco Mundial. (2020). Agua residual: De Residuo a Recurso. Banco Mundial, recuperado de <https://www.bancomundial.org/es/topic/water/publication/wastewater-initiative>.
- Barbafieri, M., Morelli, E., Tassi, E., Pedron, F., Remorini, D. y Petruzzelli, G. (2018). Overcoming limitation of “recalcitrant areas” to phytoextraction process: the synergistic effects of exogenous cytokinins and nitrogen treatments. *Sci Total Environ* 639:1520–1529. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.175>.
- Barrera-Díaz, C., Linares-Hernández, I., Roa-Morales, G., Bilyeu, B. y Balderas-Hernández, P. (2009). Removal of biorefractory compounds in industrial wastewater by chemical and electrochemical pretreatments. *Ind. Eng. Chem. Res.* 48(3), 1253–1258.
- Beaty, R. D. y Kerber, J. D. (2003). Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry, first edition. PerkinElmer™ Instruments, Connecticut, Estados Unidos.
- Bech, J., Roca, N., Tume, P., Ramos-Miras, J., Gil, C. y Boluda, R. (2016). Screening for new accumulator plants in potential hazards elements polluted soil surrounding Peruvian mine tailings. *Catena* 136:66-73. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2015.07.009>.
- Bhat, I.U.H., Mauris, E.N. y Khanam, Z. (2016). Phytoremediation of iron from red soil of tropical region by using *Centella asiatica*. *Int J Phytoremediation* 18(9):918–

923. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1156637>.
- Bian, Z., Wang, Y., Zhang, X., Li, T., Grundy, S., Yang, Q. y Cheng, R. (2020). Una revisión de los efectos ambientales sobre la acumulación de nitratos en hortalizas de hoja cultivadas en ambientes controlados. *Foods* (Basilea, Suiza), 9(6), 732. <https://doi.org/10.3390/foods9060732>
- Bizily, S.P., Rugh, C.L., Summers, A.O. y Meagher, R.B. (1999). Phytoremediation of methylmercury pollution: merB expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:6808–6813
- Blaylock, M.J. (2000). Field demonstrations of phytoremediation of lead-contaminated soils. In: Terry, N.; Bañuelos, G. (Ed.). *Phytoremediation of contaminated soil and water* Boca Raton: Lewis Publishers, 1-12.
- Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D. y Raskin, I. (1997). Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil applied chelating agents. *Environmental Science and Technology*, 31:860-865.
- Bouman, R., van Welzen, P., Sumail, S., Echevarria, G., Erskine, P.D. y Van der Ent, A. (2018). *Phyllanthus rufuschaneyi*: a new nickel hyperaccumulator from Sabah (Borneo Island) with potential for tropical agromining. *Bot Stud* 59(1):9. <https://doi.org/10.1186/s40529-018-0225-y>.
- Brenniman, G.R. (2009). Water-borne diseases. In: Alexander (ed.) *Environmental Geology*. Encyclopedia of Earth Science. Springer, Dordrecht.
- Brooks, R. R., Chambers, M. F., Nicks, L. J. y Robinson, B. H. (1998). Phytomining. *Trends in Plant Science*. 3(9): 359-362. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(98\)01283-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(98)01283-7).
- Buchet, J. P., Lauwerys, R., Roels, H., Bernard, A., Bruaux, P., Claeys, F., Ducoffre, G., de Plaen, P., Staessen, J., & Amery, A. (1990). Renal effects of cadmium body burden of the general population. *Lancet (London, England)*, 336(8717), 699–702. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)92201-r](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)92201-r).
- Calheiros, C. S. C., Rangel, A. O. S. S., & Castro, P. M. L. (2008). The effects of tannery wastewater on the development of different plant species and chromium accumulation in *Phragmites australis*. *Archives of Environmental Contamination*

- and Toxicology*, 55(3), 404–414. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9087-0>
- Calheiros, C. S. C., Rangel, A. O. S. S., & Castro, P. M. L. (2009). Treatment of industrial wastewater with two-stage constructed wetlands planted with *Typha latifolia* and *Phragmites australis*. *Bioresource Technology*, 100(13), 3205–3213. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.017>
- Carranza-Álvarez, C., Alonso-Castro, A. J., Alfaro-De La Torre, M. C., & García-De La Cruz, R. F. (2008). Accumulation and distribution of heavy metals in *Scirpus americanus* and *Typha latifolia* from an artificial lagoon in San Luis Potosí, México. *Water, Air, and Soil Pollution*, 188(1–4), 297–309. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9545-3>
- Carrera-Chapela, F., Donoso-Bravo, A., Souto, J. a., & Ruiz-Filippi, G. (2014). Modeling the Odor Generation in WWTP: An Integrated Approach Review. *Water, Air, & Soil Pollution*, 225(6), 1932. doi:10.1007/s11270-014-1932-y.
- Çelik, J., Aksoy, A. y Leblebici, Z. (2018). Metal hyperaccumulating Brassicaceae from the ultramafic area of Yahyalı in Kayseri province, Turkey. *Ecol Res* 33(4):705–713. <https://doi.org/10.1007/s11284-018-1606-0>.
- Chamba, I., Gazquez, M.J., Selvaraj, T., Calva, J., Toledo, J.J. y Armijos, C. (2016). Selection of a suitable plant for phytoremediation in mining artisanal zones. *Int J Phytoremediation* 18(9):853–860. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1156638>.
- Chandra, R. y Kumar, V. (2018). Phytoremediation: a green sustainable Technology for industrial waste management. In Chandra, R., Dubei, N. K. y Kumar, V. (2018). *Phytoremediation of environmental pollutants*. Taylor & francis, 1: 1-42.
- Chandra, R., y Kumar, V. (2017). Phytoextraction of heavy metals by potential native plants and their microscopic observation of root growing on stabilised distillery sludge as a prospective tool for in situ phytoremediation of industrial waste. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(3), 2605–2619. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8022-1>
- Chen, H. y Cutright, T. (2001). EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*. *Chemosphere* 45:21–28
- Chen, Y. X., Lin, Q., Luo, Y. M., He, Y. F., Zhen, S. J., Yu, Y. L., Tian, G. M., y Wong, M.

- H. (2003). The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Chemosphere*, 50(6), 807–811. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(02\)00223-0](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(02)00223-0).
- Cheng, H., Liu, Q., Ma, M., Liu, Y., Wang, W. y Ning, W. (2019). Cadmium tolerance, distribution, and accumulation in *Taraxacum ohwianum* Kitam. as a potential Cd-hyperaccumulator. *Int J Phytoremediation* 21(6):541–549. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1537240>.
- Chibuike, G. U., y Obiora, S.C. (2014). Heavy Metal Polluted Soils: Effect on Plants and Bioremediation Methods. *Applied and Environmental Soil Science*, 2014(1):1-12. Doi:[10.1155/2014/752708](https://doi.org/10.1155/2014/752708).
- Colt, J. (2006). Water quality requirements for reuse systems. *Aquacult. Eng.* 34, 143–156.
- Comisión Nacional del Agua, CONAGUA. (2018). Estadísticas del Agua en México, edición 2018. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. Recuperado de https://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/EAM_2018.pdf
- Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89 (1989). ACUERDO por el que se establecen los Criterios Ecológicos de Calidad del Aguas CE-CCA-001/89. Diario Oficial de la Federación. SEGOB.
- Dal Corso, G., Farinati, S., y Furini, A. (2010). Regulatory networks of cadmium stress in plants. *Plant signaling & behavior*, 5(6), 663–667. <https://doi.org/10.4161/psb.5.6.11425>.
- Daneshvar, A., Tigabu, M., Karimidoost, A. et al. (2017). Flotation techniques to improve viability of *Juniperus polycarpus* seed lots. *J. For. Res.* 28, 231–239. <https://doi.org/10.1007/s11676-016-0306-2>.
- Das, S. y Goswami, S. (2017). Copper phytoextraction by *Salvinia cucullata*: biochemical and morphological study. *Environ Sci Pollut Res* 24(2):1363–1371. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7830-7>.
- De la Rosa-Carrillo, M., Domínguez-Rosales, M.; Pérez-Reyes, M.; Pérez Molphe-Balch, E. (2012). Cultivo y propagación in vitro de cactáceas amenazadas del género *Turbinicarpus*. *Interciencia*, 37(2): 114-120.
- Delgado, M., Valle, S., Barra, P.J., Reyes-Díaz, M. y Zúñiga-Feest, A. (2019). New

- aluminum hyperaccumulator species of the Proteaceae family from southern South America. *Plant Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04289-2>.
- Díaz de la espina, E. y Palacios-Moreno, C. (2012). Olores en aguas residuales: ¿Cómo controlarlos de manera eficiente por el gestor?. *Empresa Municipal Aguas de Málaga (EMASA)*. 168: 75-80.
- Dubchak, S. y Bondar, O. (2019). Bioremediation and Phytoremediation: Best Approach for Rehabilitation of Soils for Future Use. In: *Remediation Measures for Radioactively Contaminated Areas*. 201-221. Doi:[10.1007/978-3-319-73398-2_9](https://doi.org/10.1007/978-3-319-73398-2_9).
- Duffus, J.H. (2002). "HEAVY METALS"—A MEANINGLESS TERM?. *Pure Appl. Chem.*, 74(5): 793–807.
- Dushenkov, V., P.B.A. Nanda Kumar, H., Motto, y Raskin, I. (1995). Rhizofiltration: The use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environ. Sci. Technol.* 29:1239-1245.
- Egendorf, S. P., Groffman, P., Moore, G. y Cheng, Z. (2020). The limits of lead (Pb) phytoextraction and possibilities of phytostabilization in contaminated soil: a critical review. *International Journal of Phytoremediation*, 22(9): 916-930. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1774501>
- Ehsan, S., Ali, S., Noureen, S., Mahmood, K., Farid, M., Ishaque, W., Shakoor, M.B. y Rizwan, M. (2014). Citric acid assisted phytoremediation of cadmium by *Brassica napus* L. *Ecotoxicol Environ Saf.* 106:164-72. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.03.007.
- Eid, E.M. y Shaltout, K.H. (2016). Bioaccumulation and translocation of heavy metals by nine native plant species grown at a sewage sludge dump site. *Int J Phytoremediation* 18(11):1075–1085. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1183578>.
- Eide, D., Broderius, M., Fett, J., and Guerinot, M. L. 1996. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 93: 5624–5628.
- EPA. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. (2020). Proteja a su familia de la exposición al plomo. Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos. Recuperado 23 de febrero de 2021 de <https://espanol.epa.gov/espanol/proteja-su-familia-de-la-exposicion-al-plomo#fuentes>.

- Escarré, J., Lefèbre, C., Raboyeau, S., Dossantos, A., Gruber, W., Cleyet Marel, J.C., Frérot, H., Noret, N., Mahieu, S., Collin, C. y Fvan Oort, F. (2010). Heavy metal concentration survey in soils and plants of the les malines mining district (Southern France): Implications for soil restoration. *Water Air Soil Pollut.* 216:485–504. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0547-1>.
- Fan, Y., Li, Z., Zhou, T., Zhou, S., Wu, L., Luo, Y. y Christie, P. (2019). Phytoextraction potential of soils highly polluted with cadmium using the cadmium/zinc hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. *Int J Phytoremed.* <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1556592>.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018). Pollutants from agriculture a serious threat to world's water. FAO organizational, Rome.
- Fernando, E.S., Quimado, M.O. y Doronila, A.I. (2014). *Rinorea niccolifera* (Violaceae), a new, nickel-hyperaccumulating species from Luzon Island, Philippines. *PhytoKeys*, 37, 1–13. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.37.7136>.
- Flora, S.J.S., Flora, G.J.S., Saxena, G. (2006). Environmental occurrence, health effects and management of lead poisoning. In: Cascas SB, Sordo J, editors. *Lead: Chemistry, Analytical Aspects, Environmental Impacts and Health Effects*. Netherlands: Elsevier Publication; 158–228.
- Follmer, C.M., Hummes, A.P., Lângaro, N.C. *et al.* Nutrient availability and pH level affect germination traits and seedling development of *Conyza canadensis*. *Sci Rep* 11, 15607 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95164-7>.
- Georgieva, V., Tasev, C. y Sengalevitch, G. (1997). Growth, yield, lead, zinc and cadmium content of radish, pea and pepper plants as influenced by level of single and multiple contamination of soil. III. Cadmium. *Bulg J Plant Physiol*, 23:12–23.
- Ghangrekar, M.M. (2012). Classification of water pollutants and effects on environment. *NPTEL* 10(12), 1-7.
- Giannakoula, A., Therios, L. y Chatzissavvidis, C. (2021). Effect of Lead and Copper on Photosynthetic Apparatus in Citrus (*Citrus aurantium* L.) Plants. The Role of Antioxidants in Oxidative Damage as a Response to Heavy Metal Stress. *Plants*, 10, 155. <https://doi.org/10.3390/plants10010155>
- Greipsson, S. (2011). Phytoremediation. *Nature Education*. 3.

- Grisey, E., Laffray, X., Contoz, O., Cavalli, E., Mudry, J., & Aleya, L. (2012). The bioaccumulation performance of reeds and cattails in a constructed treatment wetland for removal of heavy metals in landfill leachate treatment (Etueffont, France). *Water, Air, and Soil Pollution*, 223(4), 1723–1741. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0978-3>
- Grzegórska, A., Rybarczyk, P., Rogala, A. y Zabrocki, D. (2020). Phytoremediation—From Environment Cleaning to Energy Generation—Current Status and Future Perspectives. *Energies*, 13(11): 2905. <https://doi.org/10.3390/en13112905>.
- Guarino, F., Miranda, A., Castiglione, S. y Cicatelli, A. (2020). Arsenic phytovolatilization and epigenetic modifications in *Arundo donax* L. assisted by a PGPR consortium. *Chemosphere* 251:126310. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126310>
- Gujarathi, N.P.; Haney, B.J.; Linden, J.C. (2005). Phytoremediation potential of *Myriophyllum aquaticum* and *Pistia stratiotes* to modify antibiotic growth promoters, tetracycline, and oxytetracycline, in Aqueous wastewater systems. *Int. J. Phytoremediation*, 7, 99–112
- Hagino, N. y Kono, M. (1955). A study on the cause of itai-itai disease. Proceedings of the 17th meeting of the Japanese Society of Clinical Surgeons.
- Hammes, F., Seka, A., de Knijf, S. y Verstraete, W. (2003). A novel approach to calcium removal from calcium-rich industrial wastewater. *Water Research*, 37: 699–704
- Harms, H., y C. Langebartels. (1986). Standardized plant cell suspension test systems for an ecotoxicologic evaluation of the metabolic fate of xenobiotics. *Plant Sci.* 45:157-165.
- Hasan, M.D., Sharmeen, I. A., Alharby, H., Alzahrani, Y. y Hakeem, K. (2019). Assisting Phytoremediation of Heavy Metals Using Chemical Amendments. *Plants*. 10.3390/plants8090295.
- Hatamian, M., Rezaei Nejad, A., Kafi, M., Souri, M. K., y Shahbazi, K. (2020). Interaction of lead and cadmium on growth and leaf morphophysiological characteristics of European hackberry (*Celtis australis*) seedlings. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 7, 9. <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0173-0>.
- Heidari, M. (2012). Effects of salinity stress on growth, chlorophyll content and osmotic components of two basil (*Ocimum basilicum* L.) genotypes. *Afr. J. Biotechnol.*

- 11(2), 379-384. w.academicjournals.org/AJB D.
- Hillman, J. P., Hill, J., Morgan, J. y Wilkinson, J.M. (2003). Recycling of sewage sludge to grassland: A review of the legislation to control of the localization and accumulation of potential toxic metals in grazing systems. *Grass and Forage Science*. 58. 101. 10.1046/j.1365-2494.2003.00365.x.
- Hinrichsen, D. y Tacio, H. (2002). The coming freshwater crisis is already here: The linkages between population and water. Washington, DC: Woodrow Wilson International for Scholars.
- Huang, B., Xin, J., Dai, H., Liu, A., Zhou, W., Yi, Y., et al. (2015). Root morphological responses of three hot pepper cultivars to Cd exposure and their correlations with Cd accumulation. *Environmental Science and Pollution Research*. 22(2):1151-9
- Iqbal, M. Z., Rukhsana, M. y Muhammad, S. (2000). The effect of Lead and Cadmium on Trees. *Journal Of Soc. Munic. Arb.*, 36(1): 1-2.
- Ishaq, H. K., Farid, M., Zubair, M., Alharby, H. F., Asam, Z. U. Z, Farid, S., Bamagoos, A. A., Alharbi, B. M., Shakoor, M. B., Ahmad, S. R., Rizwan, M. y Ali, S. (2021). Efficacy of Lemna minor and Typha latifolia for the treatment of textile industry wastewater in a constructed wetland under citric acid amendment: A lab scale study. *Chemosphere*, 283. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131107>.
- Jarup, L. y Åkesson, A. (2009). A Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol*, 238(3): 201-208. Doi:[10.1016/j.taap.2009.04.020](https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.04.020).
- Jentschke, G., Winter, S. y Godbold, D.L. (1999). Ectomycorrhizas and cadmium toxicity in Norway spruce seedlings. *Tree Physiology*, 19, 23-30.
- Jia, Y.L., Xiao, T.F., Zhou, G.Z. y Ning, Z.P. (2013). Thallium at the inter-face of soil and green cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitataL.): soil-plant transfer and influencing factors. *Sci Total Environ*. 450–451:140–147.
- Jiang, Z., Qin, R., Zhang, H., Zou, J., Shi, Q., Wang, J., Jiang, W. y Liu, D. (2014). Determination of Pb genotoxic effects in *Allium cepa* root cells by fluorescent probe, microtubular immunofluorescence and comet assay. *Plant Soil* 383: 357–372. DOI 10.1007/s11104-014-2183-9.
- Jiménez, B. La contaminación ambiental en México. México: Colegio de Ingenieros

- Ambientales de México. (2001) [Fecha de consulta: 7 enero 2012].
- JS 893:2002 (2002). Water - Reclaimed domestic wastewater: Specifies the conditions to be met by effluent discharged from wastewater treatment plants which can be used in the various fields appearing this standard. Guidelines for reuse in irrigation. Jordania Standard.
- Khair, K.U., Farid, M., Ashraf, U., Zubair, M., Farid, S., Ishaq, H., Iftikhar, U. y Ali, S. (2020). Citric acid enhanced phytoextraction of nickel (Ni) and alleviate *Mentha piperita* (L.) from Ni-induced physiological and biochemical damages. *Environ Sci Pollut Res* **27**, 27010–27022. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08978-9>.
- Knobeloch, L., Salna, B., Hogan, A., Postle, J. y Anderson, H. (2000). Blue babies and nitrate-contaminated well water. *Environ Health Perspect.* 108(7):675-8. doi: 10.1289/ehp.00108675.
- Koop, S. H. A., y van Leeuwen, C. J. (2017, April 1). The challenges of water, waste and climate change in cities. *Environment, Development and Sustainability*, Vol. 19, pp. 385–418. <https://doi.org/10.1007/s10668-016-9760-4>
- Kozhevnikova, A.D., Seregin, I.V., Gosti, F. y Schat, H. (2017). Zinc accumulation and distribution over tissues in *Noccaea caerulescens* in nature and in hydroponics: a comparison. *Plant Soil* 411(1–2):5–16. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3116-6>.
- Kumar, A., Schreiter, I.J., Wefer-Roehl, A., Tsechansky, L., Schüth, C. y Graber, E.R. (2016). Chapter 5 - Production and Utilization of Biochar From Organic Wastes for Pollutant Control on Contaminated Sites. In: *Environmental Materials and Waste*. Academi Press, 91-116. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803837-6.00005-6>.
- Kumar, B., Smita, K. y Cumbal, L. (2017). Plant mediated detoxification of mercury and lead. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(2):2335-2342. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.08.010>
- Küpper, H., Parameswaran, A., Leitenmaier, B., Trtílek, M. y Šetlík, I. (2007). Cadmium-induced inhibition of photosynthesis and long-term acclimation to cadmium stress in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *New Phytologist* 175: 655– 674.
- Lane, S.D. y Martin, E.S. (1977) A histochemical investigation of lead uptake in *Raphanus sativus*. *New Phytol* 79(2):281–286

- Lange, B., Pourret, O., Meerts, P., Jitaru, P., Cancès, B., Grison, C. y Faucon, M.P. (2016). Copper and cobalt mobility in soil and accumulation in a metallophyte as influenced by experimental manipulation of soil chemical factors. *Chemosphere* 146:75-84. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.11.105>.
- Laporte, M.-A., Denaix, L., Pagès, L., Sterckeman, T., Flénet, F., Dauguet, S., y Nguyen, C. (2013). Longitudinal variation in cadmium influx in intact first order lateral roots of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant Soil*. 372: 581–595.
- Lee, B. O., Gi, J. K. y Jae, G. K. (2007). The Optimal Environmental Ranges for Wetland Plants: II. *Scirpus tabernaemontani* and *Typha latifolia*. *J. Ecol. Field Biol.* 30 (2): 151-159. DOI:10.5141/JEFB.2007.30.2.151.
- Lehtinen, J. y Veijanen, A. (2010). Odour Monitoring by Combined TD–GC–MS–Sniff Technique and Dynamic Olfactometry at the Wastewater Treatment Plant of Low H₂S Concentration. *Water, Air, & Soil Pollution*, 218(1-4), 185–196. doi:10.1007/s11270-010-0634-3.
- Lestan, D., Luo, C. y Xiang-Dong, L. (2008). The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: A review. *Environmental pollution*. 153. 3-13. 10.1016/j.envpol.2007.11.015.
- Li, H., Liu, Y., Zeng, G., Zhou, L., Wang, X., Wang, Y., Wang, C., Hu, X. y Xu, W. (2014). Enhanced efficiency of cadmium removal by *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. in the presence of exogenous citric and oxalic acids. *J. Environ. Sci.* 26, 2508-2516. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2014.05.031>.
- Li, X., Zhang, X., Yang, Y., Li, B., Wu, Y., Sun, H. y Yang, Y. (2016). Cadmium accumulation characteristics in turnip landraces from China and assessment of their phytoremediation potential for contaminated soils. *Front Plant Sci* 7:01862. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01862>.
- Liao Y, Chien SC, Wang M, Shen Y, Hung P, Das B (2006) Effect of transpiration on Pb uptake by lettuce and on water soluble low molecular weight organic acids in rhizosphere. *Chemosphere* 65(2):343–351
- Lichtenthaler, H.K. (1987) Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).

- Limmer, M.A.; Burken, J.G. (2016). Phytovolatilization of organic contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, 50, 6632–6643
- Lin, J.L. y Huang, P.T. (1994). Body lead stores and urate excretion in men with chronic renal disease. *J Rheumatol.*, 21:705–709.
- Liu, J., Shang, W., Zhang, X., Zhu, Y. y Yu, K. (2014). Mn accumulation and tolerance in *Celosia argentea* Linn.: a new Mn-hyperaccumulating plant species. *J Hazard Mater* 267:136–141. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.12.051>.
- Liu, K., Yu, F., Chen, M., Zhou, Z., Chen, C., Li, M. y Shun, Z.J. (2016). A newly found manganese hyperaccumulator—*Polygonum lapathifolium* Linn. *Int J Phytoremediation* 18(4):348–353. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1109589>.
- Liu, Z., Chen, W. y He, X. (2018). Evaluation of hyperaccumulation potentials to cadmium (Cd) in six ornamental species (compositae). *Int J Phytoremediation* 20(14):1464–1469. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1501343>.
- Lu, G., Wang, B., Zhang, C., Li, S., Wen, J., Lu, G. et al. (2018). Heavy metals contamination and accumulation in submerged macrophytes in an urban river in China. *Int J Phytoremediation* 20(8):839–846. <https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1438354>.
- Luo, J.-S., Huang, J., Zeng, D.-L., Peng, J.-S., Zhang, G.-B., Ma, H.-L., Guan, Y., Yi, H.-Y., Fu, Y.-L., Han, B., Lin, H.-X., Qian, Q., and Gong, J.-M. (2018). A defensin-like protein drives cadmium efflux and allocation in rice. *Nat. Commun.* 9: 645
- Luqman, M., B. Shahbaz, I.A. Khan y U. Safdar. (2013). Training needs assessment of rural women in livestock management: Case of Southern Punjab, Pakistan. *J. Agric. Res.* 51(1): 99-108.
- Madera-Parra, C. A. (2016). Treatment of landfill leachate by pooliculture constructed wetlands planted with native plants. *Ingenieria y Competitividad.* 18(2): 183-192.
- Mallhi, A.I., Chatha, S.A.S., Hussain, A.I., Rizwan, M., Bukhar, S.A.H., Hussain, A., Mallhi, Z.I., Ali, S., Hashem, A., Abd_Allah, E.F., Alyemeni, M.N. y Ahmad, P. (2020). Citric Acid Assisted Phytoremediation of Chromium through Sunflower Plants Irrigated with Tannery Wastewater. *Plants*, 9, 380. <https://doi.org/10.3390/plants9030380>.

- Mamba, B. B., Dlamini, N. P., Nyembe, D. W., Mulaba-Bafubiandi, A.F. (2009). Metal adsorption capabilities of clinoptilolite and selected strains of bacteria from mine water. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*. 34 (13), 830.
- Manahan, S. E. (2007). Introducción a la química ambiental. In *Reverté ediciones* (primera). Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=5NR8DIk1n68C&printsec=frontcover&dq=manahan+2007+phytoremediation&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjrzIzj44jmAhUOCawKHXYgBRAQ6AEITjAE#v=onepage&q&f=false>
- Maqbool, A., Ali, S., Rizwan, M., Ishaque, W., Rasool, N., Rehemani, M. Z. U., Bashir, A., Abid, M. y Wu, M. (2018). Management of tannery wastewater for improving growth attributes and reducing chromium uptake in spinach through citric acid application. *Environ Sci Pollut Res* 25, 10848–10856. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1352-4>.
- Mayes, R. A., MacIntosh, A. W. y Anderson, V. L. (1977). Uptake of Cadmium and Lead by a Rooted Aquatic Macrophyte (*Elodea Canadensis*). *Ecology*, 58(5): 1176-1180. <https://doi.org/10.2307/1936940>.
- McDonell, G. y Russell, A. D. (1999). Antiseptics and Disinfectants: activity, action and resistance. *Clin Microbiol Rev.*, 12: 147-179.
- Mendoza-Cózatl, D. G., Rangel-González, E. y Moreno-Sánchez, R. (2006) Simultaneous Cd²⁺, Zn²⁺, and Pb²⁺. Uptake and accumulation by photosynthetic *Euglena gracilis*. *Arch Environ Contam Toxicol*, 51:521–528.
- Mesjasz-Przybyłowicz, J., Przybyłowicz, W., Barnabas, A. y Van der Ent, A. (2016). Extreme nickel hyperaccumulation in the vascular tracts of the tree *Phyllanthus balgooyi* from Borneo. *New Phytol* 209(4):1513–1526. <https://doi.org/10.1111/nph.13712>.
- Metcalf y Eddy (2003). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4th Edition, McGraw-Hill, New York.
- Miller, J. E., Hassett, J. J. y Koeppe, D. E. (1977). Interactions of Lead and Cadmium on Metal Uptake and Growth of Corn Plants. *J. Environ. Qual.*, 6(1): 18. DOI: 10.2134/jeq1977.00472425000600010005x.

- Miranda, G., Quiroz, A. y Salazar, M. (2000). Cadmium and lead removal from water by the duckweed. *Lemna gibba* L. (Lemnaceae). *Hidrobiológica*, 10(1).
- Miranda, M.G. y Quiroz, A. (2013). Efecto del fotoperiodo en la remoción de plomo por *lemna gibba* L. (Lemnaceae). *Polibotánica*, 36:147-161. <https://www.redalyc.org/pdf/621/62127866010.pdf>.
- Moctezuma-Granados, C.E, Hernández-Morales, A., Briones-Gallardo, R. y Carranza-Álvarez, C. (2017). Evaluación de *Pseudomonas* endófitas de la raíz de *Typha latifolia* en la fitoextracción de Cd (II). Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina.
- Mohan, B. S. y Hosetti, B. B. (1997). Potencial Phytotoxicity of Lead and Cadmium to *Lemna minor* grown in sewage Stabilization Ponds, *Environmental Pollution*, 98(3): 233-238.
- Mojiri, A., Ziyang, L., Tajuddin, R. M., Farraji, H., & Alifar, N. (2016). Co-treatment of landfill leachate and municipal wastewater using the ZELIAC/zeolite constructed wetland system. *Journal of Environmental Management*, 166, 124–130. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.10.020>
- Morales-Rubio, M.E., Espinosa-Leal, C., y Garza-Padrón, R.A. (2016). Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales. En: Rivas Morales, C., Oranday-Cardenas, M.A., y Verde-Star, M.J. (Eds.). Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona, España: *OmniaScience*. 351-410.
- Morel, M., Crouzet, J., Gravot, A., Auroy, P., Leonhardt, N., Vavasseur, A., y Richaud, P. 2009. AtHMA3, a P1B ATPase allowing Cd/Zn/Co/Pb vacuolar storage in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 149: 894–904.
- Moreno, F.N., Anderson, C.W.N., Stewart, R.B. y Robinson, B.H. (2008). Phytofiltration of mercury-contaminated water: volatilization and plant-accumulation aspects. *Environ Exp Bot* 62:78–85
- Moreno, L., Liquiñano, M.^a C., Rubio, J. C. y Murillo, J. M. (2000). Eliminación de aguas residuales urbanas mediante infiltración directa sobre el terreno. Impacto sobre el sistema solución del suelo-agua subterránea. *Boletín Geológico y Minero*. Vol. 111-5, 47-62.
- Morón-Hernández, M. (2019). Acumulación de cadmio por *Typha latifolia* L., efectos *in*

- situ e in vitro* con adición de AIA. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Agronomía. Tesis de Ingeniería.
- Mudipalli, A. (2007). Lead hepatotoxicity & potential health effects. *The Indian journal of medical research*, 126(6), 518–527.
- Muñoz-Cruz, A. (2008). Caracterización y tratamiento de aguas residuales. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Tesis de Ingeniería.
- Mustafa, H. M. y Hayder, G. (2021). Recent studies on applications of aquatic weed plants in phytoremediation of wastewater: A review article. *Ain Shams Engineering Journal*, 12 (1): 355-365. <https://doi.org/10.1016/j.asej.2020.05.009>
- Muszyńska, E. y Labudda, M. (2019). Dual Role of Metallic Trace Elements in Stress Biology-From Negative to Beneficial Impact on Plants. *International journal of molecular sciences*, 20(13), 3117. <https://doi.org/10.3390/ijms20133117>.
- Naciones Unidas. (2021). Desafíos globales: Agua. Tomado de Naciones Unidas, paz, dignidad e igualdad en un planeta sano. <https://www.un.org/es/global-issues/water>.
- Naila, A., Meerdink, G., Jayasena. V., Sulaiman, A.Z. y Ajit, A.B. (2019). A review on global metal accumulators-mechanism, enhancement, commercial application, and research trend. *Environ Sci Pollut Res* 26(26):26449–26471. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05992-4>.
- Nedjimi, B. (2021). Phytoremediation: a sustainable environmental technology for heavy metals decontamination. *SN Appl. Sci.*3,286. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04301-4>
- Nie, J., Liu, Y., Zeng, G., Zheng, B., Tan, X., Liu, H., et al. (2016). Cadmium accumulation and tolerance of *Macleaya cordata*: a newly potential plant for sustainable phytoremediation in Cd-contaminated soil. *Environ Sci Pollut Res* 23(10):10189–10199. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6263-7>.
- Nkrumah, P.N., Echevarria, G., Erskine, P.D. y Van der Ent, A. (2018). Nickel hyperaccumulation in *Antidesma montis-silam*: from herbarium discovery to collection in the native habitat. *Ecol Res* 33(3):675–685. <https://doi.org/10.1007/s11284-017-1542-4>.

- NMX-AA-051-SCFI-2001 (2001). Análisis de agua - determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Secretaría de Economía. México, D.F. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166785/NMX-AA-051-SCFI-2001.pdf>
- NMX-AA-072-SCFI-2001 (2001). Análisis de agua - determinación de dureza total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - método de prueba. Secretaría de Economía. México, D.F. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166788/NMX-AA-072-SCFI-2001.pdf>
- NOM-002-ECOL-1996. (1996). Límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal. Recuperado de, <http://www.economia-noms.gob.mx/normas/noms/1998/002-ecol.pdf>.
- NOM-003-ECOL-1997. (1997). Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público. Diario Oficial de la Federación. Secretaria de medio ambiente, recursos naturales y pesca. México.
- NOM-127-SSA1-1994. (1994). Salud ambiental, agua para uso y consumo humano- límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Recuperado de, <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html>.
- Nordberg, G., Bernard, A., Diamond, G., Duffus, J., Illing, P., Nordberg, M., Bergdahl, I., Jin, T. & Skerfving, S. (2018). Risk assessment of effects of cadmium on human health (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 90(4), 755-808. <https://doi.org/10.1515/pac-2016-0910>.
- Nriagu, J.O. (1989). A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature*. 338: 47–49.
- Okereafor, U., Makhatha, M., Mekuto, L., Uche-Okereafor, N., Sebola, T., y Mavumengwana, V. (2020). Toxic Metal Implications on Agricultural Soils, Plants, Animals, Aquatic life and Human Health. *International journal of environmental*

- research and public health*, 17(7), 2204. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072204>.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (1993). Guías para la calidad del agua potable. Volumen 1: Recomendaciones. (Segunda edición), OMS, Ginebra.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2003). *Cadmium in drinking-water*. Documento de referencia para la elaboración de las Guías de la OMS para la calidad del agua potable. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud (WHO/SDE/WSH/03.04/80).
- Ongley, E. D. (1997). Capítulo 2 - contaminación provocada por los sedimentos. En: *Lucha Contra la Contaminación Agrícola de los Recursos Hídricos*, publicado en GEMS/Water Collaborating Centre Canada Centre for Inland Waters, Burlington, Canadá. 55.
- ONU. (2018). *Informe de los Objetivos de Desarrollo Sustentable 2018*. 1–40. Retrieved from <https://unstats.un.org/sdgs/files/report/2018/TheSustainableDevelopmentGoalsReport2018-ES.pdf>
- Ovando-Franco, M. (2012). Modificación de biopolímero extraído de nopal (*Opuntia ficus indica*) y su aplicación para la remoción de metales pesados en agua. Tesis, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C., posgrado en ciencias aplicadas.
- Palutoglu, M., Akgul, B., Suyarko, V., Yakovenko, M., Kryuchenko, N. y Sasmaz, A. (2018). Phytoremediation of cadmium by native plants grown on mining soil. *Bull Environ Contam Toxicol* 100(2):293–297. <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2220-5>.
- Parmar, S y Singh, V. (2015). Phytoremediation Approaches for Heavy Metal Pollution: A Review. *Journal of Plant Science & Research*, 2(2): 139.
- Peer, W. A., Baxter, I. R., Richards, E. L., Freeman, J. L., & Murphy, A. S. (2006). Phytoremediation and hyperaccumulator plants. *Topics in Current Genetics*, Vol. 14, pp. 299–340. https://doi.org/10.1007/4735_100
- Pence, N. S., Larsen, P. B., Ebbs, S. D., Letham, D. L. D., Lasat, M. M., Garvin, D. F., Eide, D., y Kochian, L. V. 2000. The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.

97: 4956–4960.

- Perales-Aguilar, L., Santos-Días, M.S., Gómez-Aguirre, Y.A., Ramos-Gómez, M.S. y Molphe-Balch, E. (2020). In vitro analysis of the accumulation of heavy metals in plants of the family Asparagaceae tolerant to low water availability. *Nova scientia*, 12, 24. <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2081>.
- Pérez-Clemente, R. y Gómez-Cadenas, A. (2011). In vitro Tissue Culture, a Tool for the Study and Breeding of Plants Subjected to Abiotic Stress Conditions. 10.5772/50671.
- Perfus-Barbeoch, L., Leonhardt, N., Vavasseur, A., and Forestier, C. 2002. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. *Plant J.* 32: 539–548.
- Pichereaux, C., Hernández-Domínguez, E., Santos-Díaz, M. S., Reyes-Agüero, A., Astello-García, M., Guéraud, F., Negre-Salvayre, A., Schiltz, O., Rossignol, M. y Barba de la Rosa, A. N. (2016). Comparative shotgun proteomic analysis of wild and domesticated *Opuntia* spp. species shows a metabolic adaptation through domestication, *Journal of Proteomics*, Volume 143: 353-364.
- Pincam, T. y Jampeetong, A. (2020). Treatment of Anaerobic Digester Effluent Using *Typha angustifolia* L.: Growth Responses and Treatment Efficiency. *Journal of Water and Environment Technology*, 18(2), 105-116. Doi: 10.2965/jwet.19-045.
- Pivetz, B. E. (2001). *Phytoremediation of Contaminated Soil and Ground Water at Hazardous Waste Sites*. EPA/540/S-01/500
- Ponce- Alonso, J. (2017). Efecto de *Pseudomonas* sp. sobre la fitoextracción de Pb (II) por *Typha latifolia* (espadaña). Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca. Tesis de Licenciatura.
- Rascio, N. y Navari-izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting?. *Plant Science*, 180(2): 169-181. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.016>
- Rausser, W. E. 1995. Phytochelatin and related peptides. Structure, biosynthesis, and function. *Plant Physiol.* 109: 1141–1149.
- Ravanbakhsh, M., Ronaghi, A.M., Taghavi, S.M. y Jousset, A. (2016). Screening for the next generation heavy metal hyperaccumulators for dryland decontamination. *J*

- Environ Chem Eng 4(2):2350–2355. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.04.013>.
- Rendon, J. (2017). Diseño de fases cristalinas tipo perovskita con potenciales aplicaciones fotovoltaicas. National University of Colombia. 10.13140 / RG.2.2.28228.04488.
- Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M. et al. (2016). Estrés por cadmio en el arroz: efectos tóxicos, mecanismos de tolerancia y manejo: una revisión crítica. *Environ Sci Pollut Res*, 23, 17859–17879. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6436-4>.
- Rodriguez, D. J., Serrano, H. A., Delgado, A., Nolasco, D. y Saltiel, G. (2020). De residuo a recurso: Cambiando paradigmas para intervenciones más inteligentes para la gestión de aguas residuales en América Latina y el Caribe. World Bank, Washington, DC. © World Bank. <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/33436> License: CC BY 3.0 IGO.
- Rodriguez, M. (2015). Efectos de los mecanismos de transporte de calcio, hierro y zinc en la captación de cadmio y plomo en plantas fitorremediadoras. 162. Retrieved from <http://ninive.uaslp.mx/jspui/handle/i/3945>
- Rodriguez-Hernandez, M.C., Bonifas, I., Alfaro-De la Torre, M.C., Flores-Flores, J.L., Bañuelos-Hernández, B. y Patiño-Rodríguez, O. (2015). Increased accumulation of cadmium and lead under Ca and Fe deficiency in *Typha latifolia*: A study of two pore channel (TPC1) gene responses. *Environmental and Experimental Botany* 115, 38–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.02.009>.
- Romero-Hernández, J.A., Amaya-Chávez, A., Balderas-Hernández, P., Roa-Morales, G., González-Rivas, N. y Balderas-Plata, M.Á. (2017). Tolerance and hyperaccumulation of a mixture of heavy metals (Cu, Pb, Hg, and Zn) by four aquatic macrophytes. *Int J Phytoremediation* 19(3):239–245. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1207610>.
- Saad, S., Amjad, L. y Hamed, A. (2019). Removal of Calcium ions from industrial wastewater by using low cost adsorbent material. *Revista AUS*, 26:341-347. DOI: 10.4206/aus.2019.n26-26.
- Saad-Allah, K.M. y Elhaak, M.A. (2017). Hyperaccumulation activity and metabolic responses of *Solanum nigrum* in two differentially polluted growth habitats. *J Saudi*

- Soc Agric Sci 16(3):227–235. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.08.001>.
- Saha, P., Shinde, O. y Sarkar, S. (2017). Phytoremediation of industrial mines wastewater using water hyacinth. *Int J Phytoremediation* 19(1):87–96. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1216078>.
- Salihaj, M., Bani, A., Shahu, E., Benizri, E. y Echevarria, G. (2018). Metal accumulation by the ultramafic flora of Kosovo. *Ecol Res* 33(4):687–703. <https://doi.org/10.1007/s11284-018-1635-8>.
- Sallah-Ud-Din, R., Farid, M., Saeed, R., Ali, S., Rizwan, M., Tauqeer, H.M., Bukhari, S.A.H., (2017). Citric acid enhanced the antioxidant defense system and chromium uptake by *Lemna minor* L. grown in hydroponics under Cr stress. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 17669–17678.
- Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, N. P., Dushenkov, V., Ensley, B. D., Chet, I., y Raskin, I. (1995). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Bio/technology (Nature Publishing Company)*, 13(5), 468–474. <https://doi.org/10.1038/nbt0595-468>.
- Sánchez-Saldaña, L. y Saenz, E. (2005). Antiseptics and Disinfectants. *Dermatología Peruana*, 15(2): 82-103.
- Sarwar, N., Imran, M., Shaheen, M.R., Ishaque, W., Kamran, M.A., Matloob, A. et al. (2017). Phytoremediation strategies for soils contaminated with heavy metals: modifications and future perspectives. *Chemosphere*, 171, 710–721.
- Sasmaz, A., Obek, E., & Hasar, H. (2008). The accumulation of heavy metals in *Typha latifolia* L. grown in a stream carrying secondary effluent. *Ecological Engineering*, 33(3–4), 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.05.006>
- Schnoor, J. L., Licht, L. A., McCutcheon, S. C., Wolfe, N. L., & Carreira, L. H. (1995). Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environmental science & technology*, 29(7), 318A–23A. <https://doi.org/10.1021/es00007a747>.
- Secretaría de Economía (2001). Análisis de agua - determinación de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas - método de prueba. NMX-AA-051-SCFI. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166785/NMX-AA-051-SCFI-2001.pdf>.

- Semrany, S., Faviera, L., Djelal, H., Taha, S. y Amrane, A. (2012): Bioaugmentation: Possible solution in the treatment of biorefractory organic compounds (Bio-ROCs). *Biochemical Engineering Journal*, 69: 75–86.
- Seregin, I. V., Shpigun, L. K. y Ivanov, V. B. (2004) Distribution and toxic effects of cadmium and lead on maize roots. *Russ J Plant Physiol* 51(4):525–533
- Shakoor, M.B., Ali, S., Hameed, A., Farid, M., Hussain, S., Yasmeen, T., Najeeb, U., Aslam Bharwana, S., Hasan Abbasi, G., (2014). Citric acid improves lead (pb) phytoextraction in *brassica napus* L. by mitigating pb-induced morphological and biochemical damages. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 109, 38e47. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.07.033>
- Shanmugaraj, B.M., Malla, A. y Ramalingam, S. (2019). CHAPTER 1: Cadmium Stress and Toxicity in Plants: An Overview. *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants*, 1-17. DOI: 10.1016/B978-0-12-814864-8.00001-2
- Shao, Z., Wenlong, L., Jamal, N., Jinjing, Z. y Li, Y. (2019). Growth responses and accumulation characteristics of three ornamentals under copper and lead contamination in a hydroponic-culture experiment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 103. 10.1007/s00128-019-02724-9.
- Sharma, J.K. y Juwarkar, A.A. (2015). Phytoremediation: General Account and Its Application. In *Plant Biology and Biotechnology: Volume II: Plant Genomics and Biotechnology*, Bahadur, B., Venkat Rajam, M., Sahijram, L., Krishnamurthy, K.V., Eds. Springer India: New Delhi, 673-684, https://doi.org/10.1007/978-81-322-2283-5_34
- Shen, G.M., Du, Q.Z., y Wang, J.X. (2011). Involvement of plasma membrane Ca²⁺/H⁺ antiporter in Cd²⁺ tolerance. *Rice Sci.* 19: 161–165.
- Shibli, R.A., Smith, M.A.L., Spomer, L.A. (1992). Osmotic adjustment and growth responses of three *Chrysanthemum morifolium* Ramat cultivars to osmotic stress induced in vitro. *Journal of Plant Nutrition*, 15: 1374-1381.
- Sidhu, G.P.S., Singh, H.P., Batish, D.R. y Kohli, R.K. (2017). Tolerance and hyperaccumulation of cadmium by a wild, unpalatable herb *Coronopus didymus* (L.) Sm. (Brassicaceae). *Ecotoxicol Environ Saf* 135:209–215. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.001>.

- Siebert, S.J., Schutte, N.C., Bester, S.P., Komape, D.M. y Rajakaruna, N. (2018). *Senecio conrathii* N.E.Br. (Asteraceae), a new hyperaccumulator of nickel from serpentinite outcrops of the Barberton Greenstone Belt, South Africa. *Ecol Res* 33(3):651–658. <https://doi.org/10.1007/s11284-017-1541-5>.
- Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V.P. y Prasad, S.M. (2016). Heavy Metals tolerance in plants: Role of transcriptomic, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Front. Plant. Sci.* <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01143>.
- Song, X., Yue, X., Chen, W., Jiang, H., Han, Y. y Li, X. (2019). Detection of Cadmium Risk to the Photosynthetic Performance of Hybrid Pennisetum. *Frontiers in Plant Science*, 10:798. DOI=10.3389/fpls.2019.00798
- Stephen, R.G., Zeng, L., Shannon, M.C., Roberts, S.R. (2002). Rice is more sensitive to salinity than previously thought. Annual Report of U.S. Department of Agriculture's Research Service, 481.
- Sterckeman, T. y Thomine, S. (2020): Mechanisms of Cadmium Accumulation in Plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*, DOI: 10.1080/07352689.2020.1792179
- Stottmeister, U., Wießner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M., Bederski, O., Müller, R.A. y Moormann, H. (2003). Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnol. Adv.*, 22(1-2), 93–117. PMID:14623046 doi:10.1016/j.biotechadv.2003.08.01
- Swarnakar, Arvind (2016). Analysis of physiochemical parameters for water quality: A review.
- Tang, Q., Zhou, T., Gu, F., Wang, Y. y Chu, J-M. (2017). Removal of Cd (II) and Pb (II) from soil through desorption using citric acid: Kinetic and equilibrium studies. *J. Cent. South Univ.*, 24: 1941–1952. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11771-017-3602-X>.
- Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K. y Sutton, D.J. (2014). Heavy Metals Toxicity and the Environment. *HHS Author Manuscripts*, 101: 133–164. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6.
- Thomine, S., Wang, R., Ward, J. M., Crawford, N. M., y Schroeder, J. I. 2000. Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in Arabidopsis with homology to Nramp genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 97: 4991–4996.

- Turgut, C., Pepe, M.K. y Cutright, T.J. (2003). The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus* Environmental Pollution, 131, 147-154.
- UFRGS, Universidad de Federal do Rio Grande do Sul. (1991). Diagnóstico das Condições Sedimentológicas dos Principais Rios Brasileiros. Centrais Elétricas Brasileiras S.A. (ELETROBRÁS), Rio de Janeiro.
- UNESCO. (2017). ¿Son las aguas residuales el nuevo 'oro negro'?. UNESCO Construir la paz en la mente de los hombres y de las mujeres. Recuperado el 28 de octubre de 2021, de <https://es.unesco.org/news/son-aguas-residuales-nuevo-oro-negro>.
- Urbina-López, M. (2021). Evaluación del efecto del glutatión en la fitoextracción de Mn (II) por plántulas de *Typha domingensis in vitro*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca. Tesis de Licenciatura.
- Van Der Ent, A., Callahan, D.L., Noller, B.N., Mesjasz-Przybylowicz, J., Przybylowicz, W.J., Barnabas, A. y Harris, H.H. (2017). Nickel biopathways in tropical nickel hyperaccumulating trees from Sabah (Malaysia). Sci Rep 7:41861. <https://doi.org/10.1038/srep41861>.
- Van Der Ent, A., Mak, R., De Jonge, M.D. y Harris, H.H. (2018). Simultaneous hyperaccumulation of nickel and cobalt in the tree *Glochidion cf. sericeum* (Phyllanthaceae): elemental distribution and chemical speciation. Sci Rep 8(1):9683. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26891-7>.
- Van Der Ent, A., Van Balgooy, M. y Van Welzen, P. (2016). *Actephila alanbakeri* (Phyllanthaceae): a new nickel hyperaccumulating plant species from localised ultramafic outcrops in Sabah (Malaysia). Bot Stud 57:40529. <https://doi.org/10.1186/s40529-016-0122-1>.
- Velasco, F., Molano, A. y Pramparo, L. (2019). Evaluation of a non-domestic wastewater treatment system for the removal of organic cargo in the non-alcoholic beverage industry. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 13 (26): 17-26. <https://doi.org/10.31908/19098367.1150>.
- Verma, R. y Dwivedi, P. (2013). Heavy metal water pollution- A case study. Recent Research in Science and Technology, 5(5): 98-99.

- Voulvoulis, N. (2018). Water reuse from a circular economy perspective and potential risks from an unregulated approach. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2, 32–45. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2018.01.005>
- Wang, H., Shan, X., Wen, B., Owens, G., Fang, J. y Zhang, S. (2007). Effect of indole-3-acetic acid on lead accumulation in maize (*Zea mays* L.) seedlings and the relevant antioxidant response. *Environ Exp Bot* 61(3):246–253
- Wang, S.T., Dong, Q., Wang, Z.L., (2017). Differential effects of citric acid on cadmium uptake and accumulation between tall fescue and Kentucky bluegrass. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 145, 200-206. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.07.034>.
- Wasewar, K. L., Singh, S. y Kansal, s. K. (2020). Chapter 13 - Process intensification of treatment of inorganic water pollutants. *Inorganic Pollutants in Water*. 245-271. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818965-8.00013-5>
- Wen, Y., Schoups, G. & van de Giesen, N. (2017). Organic pollution of rivers: Combined threats of urbanization, livestock farming and global climate change. *Scientific Reports*, 7: 43289.
- WHO/FAO/IAEA. World Health Organization (1996). Switzerland: Geneva. Trace Elements in Human Nutrition and Health.
- WHO-EM/CEH/142/EA. (2006). Compendium of standards for wastewater reuse in the Eastern Mediterranean Region. World Health Organization, 12-14.
- Wierzbicka, M., (1988). Mitotic disturbances induced by low doses of inorganic lead. *Caryologia* 41, 143–160.
- Wilson, D.N. (1988). Association Cadmium. Cadmium - market trends and influences; London. Cadmium 87 Proceedings of the 6th International Cadmium Conference; 9–16.
- Wong-Argüelles, C. (2020). Análisis de la calidad de agua y de la distribución elemental en *Typha domingensis* en el humedal natural Ciénega de Tamasopo. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales. Tesis de Doctorado.
- Wu, M., Luo, Q., Zhao, Y. y Long, Y. (2018). Physiological and Biochemical Mechanisms Preventing Cd Toxicity in the New Hyperaccumulator *Abelmoschus Manihot*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37(3). Doi: [10.1007/s00344-017-9765-8](https://doi.org/10.1007/s00344-017-9765-8).

- Yamaguchi, T., Tomioka, R. y Takenaka, C. (2017). Accumulation of cobalt and nickel in tissues of *Clethra barbinervis* in a metal dosing trial. *Plant Soil* 421(1–2):273–283. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3455-y>.
- Yan, A., Wang, Y., Tan, SN, Mohd Yusof, ML, Ghosh, S. y Chen, Z. (2020). Fitorremediación: un enfoque prometedor para la revegetación de tierras contaminadas por metales pesados. *Frontiers in Plant Science*, 11, 359. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00359>
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q. y Ma, L.Q. (2006). Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Sci Total Environ.* 368(2-3):456-64. doi: 10.1016/j.scitotenv.2006.01.016. Epub 2006 Apr 4. PMID: 16600337.
- Yu, F., Liu, K., Ye, P., Zhou, Z., Chen, C. y Li, Y. (2019). Manganese tolerance and accumulation characteristics of a woody accumulator *Camellia oleifera*. *Environ Sci Pollut Res* 26(21):21329–21339. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05459-6>.
- Zaheer, I.E., Ali, S., Rizwan, M., Farid, M., Shakoob, M.B., Gill, R.A., Najeeb, U., Iqbal, N., Ahmad, R., (2015). Citric acid assisted phytoremediation of copper by *Brassica napus* L. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 120, 310–317.
- Zamora-Martínez, O., Montaña-Hilario, J. M., Galindo-Zavala, V. B., Siebe-Grabach, C. y Prado-Pano, B. L. (2016). Determinación simultánea de cationes mayoritarios en muestras de agua residual por medio de cromatografía de iones con detección conductimétrica. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 32 (3): 293-301. Doi: 10.20937/RICA.2016.32.03.04
- Zeid, I. M., Abou, E.I. y Ghate, H. M. (2007). Effect of sewage water on growth, metabolism and yield of bean. *J Biol Sci.*, 7:34–40. doi: 10.3923/jbs.2007.34.40
- Zhang, Y., Zhang, Y., Akakuru, O. U., Xu, X., y Wu, A. (2021). Research progress and mechanism of nanomaterials-mediated in-situ remediation of cadmium-contaminated soil: A critical review. *Journal of environmental sciences (China)*, 104, 351–364. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.12.021>.
- Zhong, L., Lin, L., Liao, M., Wang, J., Tang, Y., Sun, G. et al. (2019). Phytoremediation potential of *Pterocypsela laciniata* as a cadmium hyperaccumulator. *Environ Sci Pollut Res* 26(13):13311–13319. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04702-4>