

***Salvinia minima* Baker: un helecho acuático con capacidad para fitorremediar cuerpos de agua contaminados por metales**

Es necesario desarrollar tecnologías limpias que puedan resolver el problema de la contaminación de cuerpos de agua contaminados con metales. En el presente artículo, se revisan los resultados de 20 años de investigaciones en el CICY, en torno a un helecho acuático flotante llamado *Salvinia minima* Baker. Nuestros resultados muestran su capacidad de tomar plomo, níquel, litio, cobre y zinc, y confirman su alta tolerancia a acumular dichos metales sin que se presenten daños fisiológicos significativos. Su flotabilidad, rápido crecimiento, facilidad de manejo y su capacidad de remover metales, hacen a *S. minima* una especie prometedora para este fin.

Palabras clave:
Absorción, helechos acuáticos, cobre, litio, níquel, plomo, tolerancia, zinc.

EDUARDO GÓMEZ-HERNÁNDEZ¹, TONY HOFFMAN¹, CLAUDIA KUTTER¹, DAVID UH-RAMOS¹, DANIEL LEAL¹, NEYI ESTRELLA-GÓMEZ¹, KATIANA TREJO¹, IGNACIO FUENTES¹, GERARDO CARRILLO-NIQUETE¹, GABRIELA FUENTES-ORTÍZ², JORGE M. SANTAMARÍA^{1,3}

¹Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Calle 43 No. 130 x 32 y 34, Col. Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, 97205, México.

²Investigador Independiente. Calle 6A, 279A, Jardines de Vista Alegre, Mérida, Yucatán, 97130, México.

³jorgesm@cicy.mx

La contaminación por metales, en agua, tierra y aire, es un problema cada vez más severo a nivel mundial. Resulta imperativo disponer de alternativas efectivas para descontaminar cuerpos de agua que se han visto afectados por materiales que se desechan con aparente facilidad derivados, entre otros, de aparatos que conllevan la presencia de metales, sobre todo con la importancia que han cobrado algunos de estos metales en la elaboración de baterías de aparatos electrónicos y autos eléctricos. Una alternativa viable a enfrentar este problema, podría ser la fitorremediación, que se refiere al uso de plantas acuáticas para la limpieza de cuerpos de agua. Este enfoque representa una solución potencialmente eficaz y respetuosa con el ambiente, al mitigar los efectos nocivos de la contaminación por metales, al tiempo que se presenta como una estrategia alineada con la creciente demanda de tecnologías más limpias y sostenibles.

Una de las plantas acuáticas que pueden ser usadas en la fitorremediación de cuerpos de agua contaminados, es el helecho acuático flotante *Salvinia minima* Baker. Esta especie pertenece a la familia Salviniaceae (Jacono 2003) y forma parte integral de la colección de plantas acuáticas que se alberga en el Jardín Botánico Regional Roger Orellana del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. (CICY).

@CICYoficial



GOBIERNO DE
MÉXICO

Salvinia minima, conocida comúnmente como "oreja de ratón", suele alcanzar un tamaño entre 1 y 3 centímetros de longitud, tiene hojas redondas de color verde brillante, cubiertas de pequeños vellocidades (llamadas tricomas) que le dan una textura suave. Sus hojas están dispuestas en pares y cada par de hojas está conectado por un tallo corto. Esta textura y estructura de las hojas, ayudan a mantener su flotabilidad (Dickinson y Miller 1998). A diferencia de otras plantas acuáticas, *S. minima* no tiene raíces verdaderas que se extiendan en el agua hasta alcanzar el sustrato. En su lugar, sus pequeñas raíces son filamentosas y se desarrollan debajo de las hojas flotantes (ISSG 2006) (Figura 1).

Esta especie crece en aguas tranquilas, como estanques, lagos, arroyos lentos y canales (Jacono 2003). Habita en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Tipping y Center 2005). Tiene una reproducción asexual (Jacono 2003). Este helecho desempeña un papel importante en los ecosistemas acuáticos al proporcionar refugio y alimento para organismos acuáticos como insectos, larvas de insectos y peces, y ayuda a mejorar la calidad del agua al reducir la evaporación y proporcionar sombra, lo que puede mantener la temperatura del agua y reducir el crecimiento de algas. Su amplia distribución, su pequeño tamaño, su facilidad de propagación, su flotabilidad y el ser fácilmente cosechable, hacen que *Salvinia minima* pueda ser una opción efectiva para el tratamiento de aguas contaminadas y para la restauración de ecosistemas acuáticos.

Desde el año 2004, en el laboratorio de Fisiología Vegetal Molecular de la Unidad de Biotecnología del CICY, se han desarrollado diversos proyectos de investigación dirigidos a la evaluación de la capacidad de este helecho acuático flotante, de remover metales de medios acuosos. Asimismo, se pretende conocer si esta especie puede ser efectiva en la eliminación de metales presentes en cuerpos de agua, así como evaluar su habilidad para tolerar concentraciones sustancialmente elevadas de estos elementos en sus tejidos a lo largo del tiempo.

Iniciamos por definir si era capaz de tomar plomo y arsénico, encontrando que tomaba de forma muy eficiente plomo, aunque era menos capaz de tomar arsénico (Hoffmann *et al.* 2004) (Figura 2). Comenzamos entonces una serie de estudios sobre la toma de plomo, para tratar de entender en forma más detallada, los mecanismos mediante los cuales este

helecho era capaz de tolerar altos contenidos de este metal en sus tejidos. Para ello, estudiamos los cambios a nivel morfológico (cambios en la hojas y raíces de la planta) y estudiamos los niveles de expresión de algunos genes que ayudan a conocer como toleran los metales y como pueden ser transportados por membranas. Por ejemplo, los genes que codifican para dos enzimas claves: la fitoquelatina sintasa (SmPS) y la glutatión sintetasa (SmGS) (las iniciales Sm, al inicio del nombre del gen implica que este se identificó en *Salvinia minima*). Encontramos que, en respuesta al plomo, el gen que codifica para SmPS, se expresa más en raíces, mientras que el gen de SmGS se expresa más en hojas, y los niveles de las proteínas fitoquelatinas y de glutatión, aumentan en respuesta a la exposición al metal (Estrella-Gómez *et al.* 2009, 2012). También estudiamos en que parte de la célula se acumulaba este metal (mayor contenido endógeno), encontrando que *S. minima* es capaz de formar nanopartículas de plomo (estructuras menores a 57 nanómetros), que se adhieren a la pared celular (Castro-Longoria *et al.* 2014). También se realizó un banco sustractivo (un banco de genes solo presentes en determinada condición) para encontrar cuales genes se sobre expresaban (mayor presencia) en respuesta a exposición a plomo. Destacaron cuatro genes que codifican proteínas transportadores (proteínas que ayudan a transportar el metal al interior de la célula o a las vacuolas), que parecen estar involucrados en el transporte y distribución del plomo absorbido de las raíces a las hojas (Leal *et al.* 2016, 2017 y 2018).

Una vez que avanzamos en entender un poco más el complejo mecanismo que este helecho acuático flotante tiene para tomar y tolerar altas concentraciones de plomo en sus tejidos, decidimos explorar si era capaz de absorber otros metales. De manera que realizamos estudios con níquel (metal también usado en las baterías de artículos electrónicos), encontrando que, en forma similar al plomo, este helecho también era capaz de acumular altas concentraciones de este metal en sus tejidos (Fuentes *et al.* 2014). Otros metales que hemos estudiado son el zinc y el cobre, encontrando que, aunque *S. minima* es capaz de acumular ambos metales, es más tolerante al zinc que al cobre (Carrillo *et al.* 2022) (Figura 2).

Recientemente, realizamos estudios para definir si *S. minima* también era capaz de absorber y acumu-



Figura 1. *Salvinia minima* Baker, donde se pueden apreciar sus hojas modificadas, las cuales poseen una gran cantidad de vellosidades (tricomos) y sus raíces flotantes (Fotografía por E. Gómez).

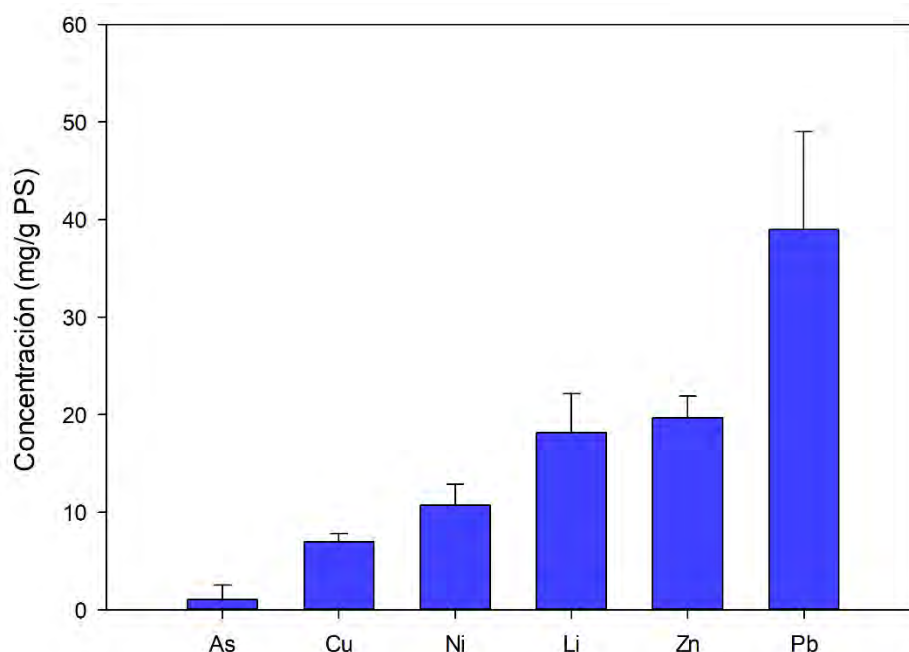


Figura 2. Máximas concentraciones endógenas encontradas en plantas completas (raíz + hojas) de *Salvinia minima* Baker expuestas a seis diferentes metales, en experimentos independientes (gráfica elaborada a partir de datos tomados de publicaciones de nuestro grupo; Hoffmann *et al.* 2004 (160 uM Pb(NO₃)₂); Fuentes *et al.* 2014 (40uM NiCl); Carrillo *et al.* 2022 (80 uM ZnSO₄ y CuSO₄) y Gómez-Hernández 2023 (20 mM LiCl)), (Abreviaciones: **As**) arsénico, **Cu**) cobre, **Ni**) níquel, **Li**) litio, **Zn**) zinc, **Pb**) plomo).

lar litio. Nuestros resultados sugieren que este helecho es capaz de tomar litio del medio acuoso y, de hecho, se puede considerar como especie hiperacumuladora del mismo (contiene altos niveles del metal en sus tejidos). Para definir el nivel de tolerancia a litio, se expusieron plantas a diferentes concentraciones experimentales de este metal y se evaluaron una serie de parámetros fisiológicos durante 96 horas de exposición. Los resultados demostraron que la fisiología y la producción de biomasa (peso seco de hojas y raíces), se mantienen estables cuando las plantas de *S. minima* son expuestas a concentraciones menores de 1 mM de LiCl (donde la planta acumula concentraciones endógenas de este metal de hasta 2.47 mg/g peso seco), aunque a mayores concentraciones (20mM), los procesos fisiológicos tienden a disminuir drásticamente. Sin embargo, dado que los máximos niveles de concentración de este

metal reportados hasta ahora en cuerpos de agua, no rebasan concentraciones de 0.006 mM, se sugiere que este helecho acuático podría ser de utilidad en la fitorremediación de cuerpos de agua contaminados con este metal (Gomez-Hernández 2023).

Los resultados de estos casi 20 años de estudio sobre este helecho acuático flotante, han proporcionado valiosos conocimientos sobre el potencial que presenta *S. minima* como especie fitorremediadora de cuerpos de agua contaminados con metales (Figura 2). Nuestros datos sugieren que *S. minima* es muy eficiente en la toma de plomo (Pb), un poco menos eficiente en la toma de zinc (Zn) y níquel (Ni) y muy poco eficiente en la toma de cobre (Cu) y arsénico (As). Además, hemos obtenido datos importantes sobre las concentraciones máximas de metales que esta planta puede tolerar sin sufrir daños fisiológicos significativos (Figura 3).

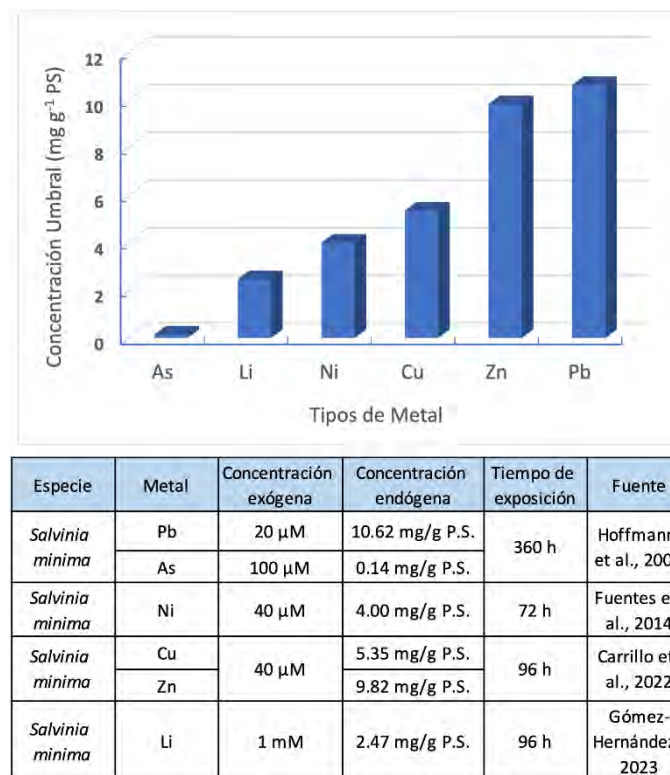


Figura 3. Niveles de tolerancia al metal; concentración endógena umbral de los diferentes metales estudiados, concentración en la cual no se presentan daños visuales ni fisiológicos, pasada esa concentración endógena en los tejidos de *Salvinia minima* Baker del metal correspondiente, se presentan daños (gráfica y tabla, elaboradas y modificadas a partir de datos tomados de publicaciones de nuestro grupo).

En relación a su tolerancia a los diferentes metales, hemos encontrado que *S. minima* es capaz de absorber grandes cantidades de plomo sin afectar significativamente su fisiología, hasta un punto (concentración umbral) después de la cual, los procesos fisiológicos si se ven afectados (Figura 4). Aparentemente, el plomo a altas concentraciones y largos tiempos de exposición, es muy tóxico resultando en daño severo en las hojas; en el caso de níquel, el metal causa clorosis (color amarillento) y aparición de zonas necróticas (muerte celular) en las orillas de las hojas; por su parte el litio, aunque también causa cierto grado de clorosis, hay que considerar que se expusieron a concentraciones en un orden de magnitud más al-

tas que en los otros dos metales, y a pesar de ello, los daños fueron severos solo hasta concentraciones de 20 mM al ser expuestos por 96 horas (Figura 4).

Por todo lo anterior, *S. minima* Baker, parece ser una opción futura efectiva para el tratamiento de cuerpos de agua contaminados con metales, así como para la restauración de ecosistemas acuáticos.

Agradecimientos: Al Dr. Enrique Sauri del ITM y a la M.C. María de Fátima Medina Lara de la UBI del CICY, por su invaluable apoyo en la cuantificación de los metales. Al Dr. Jose Luis Andrade por sus aportaciones en el estudio de Cu y Zn, durante la codirección del estudiante G. Carrillo.

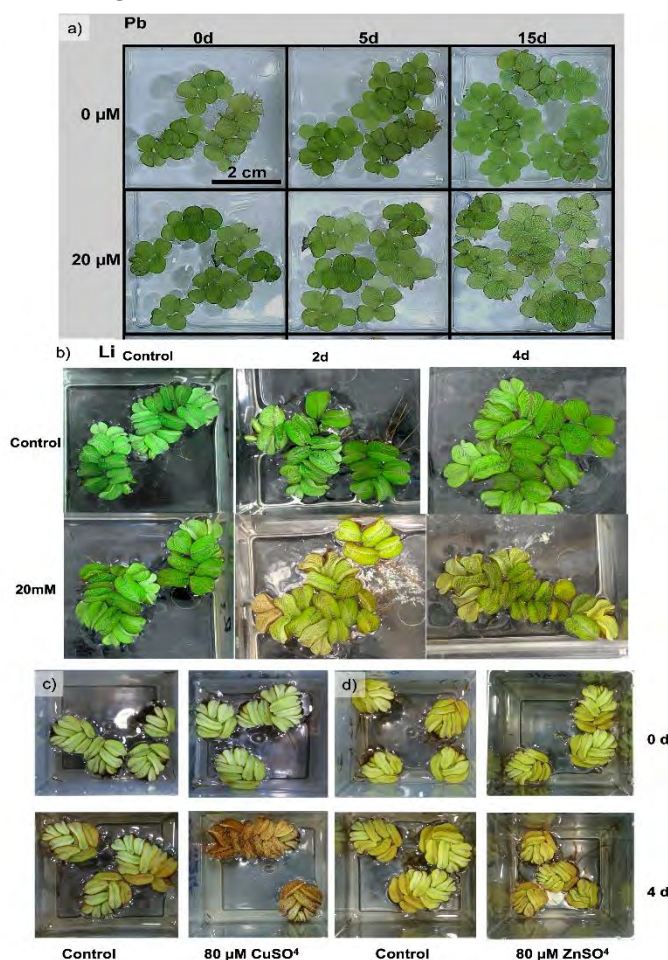


Figura 4. Efecto de cuatro metales en la apariencia de hojas de *Salvinia minima* Baker expuestas a altas concentraciones del metal (por arriba de la concentración umbral) por tiempos considerables. Efecto de: **A)** plomo, Hoffmann *et al.* 2004, **B)** litio, Gómez-Hernández 2023, **C)** cobre y **D)** zinc, Carrillo *et al.* 2022 (Fotografías tomadas y modificadas a partir de publicaciones de nuestro grupo).

Referencias

- Carrillo G., Andrade J.L., Hernandez L., Cobos-Fuentes G., Santamaría J.M. 2022. Copper accumulation in the aquatic fern *Salvinia minima* causes more severe physiological stress than zinc. *Biometals* 35: 1043-1057.
<https://doi.org/10.1007/s10534-022-00423-3>
- Castro-Longoria E., Trejo-Guillén K., Vilchis-Nestor A., Avalos-Borja M., Andrade-Canto S., Leal-Alvarado D., Santamaría J.M. 2014. Biosynthesis of lead nanoparticles by the aquatic water fern, *Salvinia minima* Baker, when exposed to high lead concentration. *Colloids and Surfaces B Biointerfaces* 114: 277-283.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.09.050>
- Dickinson M.B., Miller T.E. 1998. Competition among small free-floating, aquatic plants. *American Midland Naturalist* 140(1): 55-67.
- Estrella-Gómez N., Duch S., Zapata O., Santamaría J.M. 2012. Glutathione plays a role in protecting leaves of *Salvinia minima* from Pb²⁺ damage associated with changes in the expression of SmGS genes and increased activity of GS. *Environmental and Experimental Botany* 75: 188-194.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.09.001>
- Estrella-Gómez N., Mendoza-Cózatl D., Moreno-Sánchez R., González-Mendoza D., Zapata-Pérez O., Martínez-Hernández A., Santamaría J.M. 2009. The Pb-hyperaccumulator aquatic fern *Salvinia minima*, responds to Pb²⁺ by increasing phytochelatin synthesis via changes in SmPCS expression and in phytochelatin synthase activity. *Aquatic Toxicology* 91: 320-328.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.11.002>
- Fuentes I.I., Espadas F., Talavera C., Fuentes G., Santamaría J.M. 2014. Capacity of the aquatic fern (*Salvinia minima* Baker) to accumulate high concentrations of nickel in its tissues, and its effect on plant physiological processes. *Aquatic Toxicology* 155: 142-150.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.06.016>
- Gomez-Hernández E. 2023. Expresión de genes transportadores y caracterización fisiológica de *Salvinia minima* en respuesta a Litio. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Mérida, Yucatán, México, 123 pp.
<http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/2739>
- Hoffmann T., Kutter C., Santamaría J.M. 2004. Capacity of *Salvinia minima* Baker to tolerate and accumulate As and Pb. *Acta Biotechnologica* 4(1): 61-65. <https://doi.org/10.1002/elsc.200400008>
- ISSG. 2006. *Salvinia minima*. Global Invasive Species Database. Invasive Species Specialist Group, IUCN. Auckland, New Zealand: University of Auckland.
<http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=570&fr=1&sts=sss&lang=EN>
- Jacono C.C. 2003. *Salvinia*, nonindigenous aquatic ferns in the United States *Salvinia molesta* - *Salvinia minima* and their biological control, *Cyrtobagous salviniae*, the *Salvinia* weevil. USA: United States Geological Survey. *Castanea* 66(3): 214-226.
<http://salvinia.er.usgs.gov/>
- Leal D., Estrella H., Saenz L., Ramírez J.H., Zapata O., Santamaría J.M. 2018. Genes coding for transporters showed a rapid and sharp increase in their expression in response to lead, in the aquatic fern (*Salvinia minima* Baker). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147:1056-1064.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.046>
- Leal D., Martínez A., Calderón C., Uh D., Fuentes G., Ramírez J.H., Sáenz L., Santamaría J.M. 2017. Identification of up-regulated genes from the metal-hyperaccumulator aquatic fern *Salvinia minima* Baker, in response to lead exposure. *Aquatic Toxicology* 193: 86-96.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.006>
- Leal D., Espadas-Gil F., Sáenz-Carbonell L., Talavera-May C., Santamaría J.M. 2016. Lead accumulation reduces photosynthesis in the lead hyper-accumulator *Salvinia minima* Baker, by affecting cell membrane and inducing stomatal closure. *Aquatic Toxicology* 171: 37-47.
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.12.008>
- Tipping P.W., Center T.D. 2005. Influence of plant size and species on preference of *Cyrtobagous salviniae* adults from two populations. *Biological Control* 32: 263-268.

Desde el Herbario CICY, 15: 243-249 (07-diciembre-2023), es una publicación semanal editada por el Herbario CICY del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., con oficinas en Calle 43 x 32 y 34 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México. Tel. 52 (999) 942-8330 Ext. 232, www.cicy.mx/Sitios/Desde_Herbario/, webmas@cicy.mx. Editores responsables: Ivón M. Ramírez Morillo, Diego Angulo y Néstor E. Raigoza Flores. Reserva de Derechos al Título Exclusivo No. 04-2016-041413195700-203, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, ISSN: 2395-8790. Responsable de la publicación: José Fernely Aguilar Cruz, Calle 43 x 32 y 34 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México. Fecha de última modificación: 07 de diciembre de 2023. Las opiniones expuestas por los autores no necesariamente expresan la postura del editor de la publicación. De la misma manera, la responsabilidad sobre la veracidad y la precisión de los contenidos, le corresponde totalmente a los autores de los ensayos.