

Artículo científico

Eficiencia de los bioindicadores de toxicidad sobre contaminantes de aguas residuales industriales

Ana Elisa Alcántara-Valladolid¹ , Moisés Tejocote-Pérez^{2*} 
& Patricia Balderas-Hernández³ 

Resumen

En el presente trabajo, damos a conocer algunos factores biológicos importantes que llegan a modificar la eficiencia de los bioindicadores de toxicidad que se utilizan para evaluar el efecto nocivo de los contaminantes del agua residual industrial sobre organismos y procesos biológicos, como la reproducción, crecimiento y desarrollo. Se analiza el modelo de *Lactuca sativa* y se enlista una propuesta de nuevos parámetros biológicos con hongos, bacterias, plantas y animales que pueden ser empleados como bioindicadores de toxicidad y ecotoxicidad que no comprometen de manera directa la sobrevivencia de los organismos en bioensayos y ambientes contaminados con descargas de agua residual industrial.

Palabras clave: bioindicador, toxicidad, efluentes, *Lactuca sativa*.

Abstract

In this paper, we present some important biological factors that modify the efficiency of toxicity bioindicators used to evaluate the harmful effect of industrial wastewater pollutants on biological organisms and processes, such as reproduction, growth and development. The *Lactuca sativa* model was analyzed and proposal for new biological parameters with fungi, bacteria, plants and animals that can be used as bioindicators of toxicity and ecotoxicity that do not directly compromise the survival of organisms in bioassays and environments contaminated with industrial wastewater effluents.

Key words: bioindicator, toxicity, effluents, *Lactuca sativa*.

Recibido: 08 de enero de 2024.

Aceptado: 19 de abril de 2024.

Introducción

Dentro de los estudios y análisis de toxicidad, es muy común utilizar bioindicadores derivados de estructuras biológicas y organismos íntegros, tal es el caso del modelo de semillas de lechuga *Lactuca sativa*, el cuál evalúa el índice de porcentaje de germinación de semillas y la sobrevivencia de plántulas, a través del índice medio

de letalidad (Sparling 2016). La toxicología acuática analiza las propiedades físicas y químicas de residuos peligrosos que previenen los riesgos biológicos hacia las especies que habitan en los sistemas acuáticos, así como en sistemas de tratamiento y descargas de agua residual, tal es el caso del efluente industrial que recibe el río Lerma, en el estado de México, a través de la Planta de Tratamiento RECICLAGUA

¹ Laboratorio de Calidad del Agua. Instituto interamericano de Tecnología y Ciencias del Agua. Universidad Autónoma del Estado de México. Campus El Rosedal. Km 14.1. Carr. Toluca-Ixtlahuaca. Toluca, Estado de México. 50200.

² Laboratorio de Biotecnología Ambiental. Centro de Investigación en Ciencias Biológicas Aplicadas. Universidad Autónoma del Estado de México. Campus El Rosedal. Km 14.1. Carr. Toluca-Ixtlahuaca. Toluca, Estado de México. 50200.

³ Laboratorio de Química Ambiental. Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable. Universidad Autónoma del Estado de México. Km 14.1. Carr. Toluca-Ixtlahuaca. Toluca, Estado de México. 50200.

* Autor de correspondencia: mtp@uaemex.mx (MTP)

(Fossi & Panti 2018). En esta investigación se obtiene la eficiencia del modelo toxicológico de *Lactuca sativa* bajo el análisis de su viabilidad embrionaria germinativa, obteniendo una influencia positiva en los resultados de tolerancia y sobrevivencia de las semillas ante los contaminantes (Sparling 2016, Fossi & Panti 2018).

Diversos estudios no recomiendan realizar bioensayos con un solo grupo de organismos o con una sola especie, lo indicado es utilizar organismos distintos como descomponedores, productores y consumidores (Fossi & Panti 2018, Armiard et al. 2022). Los bioensayos de toxicidad con semillas de lechuga (*L. sativa*) son pruebas estáticas de toxicidad aguda, donde se muestran los efectos fitotóxicos en la germinación de semillas, principalmente los efectos en la elongación de la radícula y el hipocotilo, asumiendo que la sustancia tóxica pondrá en riesgo sus procesos fisiológicos de la planta, su desarrollo y sobrevivencia (Armiard et al. 2022). Las concentraciones bajas de sustancias tóxicas no inhiben la germinación; sin embargo, pueden retardar la elongación de la radícula o del hipocotilo, constituyendo así indicadores sensibles en la evaluación de efectos biológicos sobre vegetales. Esta prueba suele ser aplicada para compuestos solubles en lagos, ríos, aguas subterráneas, para consumo humano y aguas residuales domésticas e industriales (Fossi & Panti 2018, Armiard et al. 2022). Es una prueba accesible y no requiere equipamiento sofisticado. Se creó que no existen variaciones genéticas y diversidad de fenotipos en las variedades de *L. sativa* sobre el índice de porcentaje residual normalizado (IGN) (Fossi & Panti 2018); sin embargo, demostramos que los alcances y limitaciones del índice, sí se ven afectados por la variedad y viabilidad de las semillas (Armiard et al. 2022, Zezulka & Kummerová 2023).

Material y métodos

Se analizaron las diferencias en la germinación y crecimiento de la radícula de semillas seleccionadas de lechuga según la concentración de agua residual industrial y las condiciones de viabilidad de cada tipo de semilla, encontrando diferencias en la germinación y variedad de semillas (Krebs 2014, Gao & Feng 2015).

Selección de semillas

Para evaluar el efecto de los contaminantes sobre el nivel de toxicidad en las semillas, se seleccionaron dos variables: el porcentaje de germinación y la variedad de semillas. La variedad se seleccionó a partir de la marca procedente, tomando como criterio, semillas certificadas de uso agrícola que garantiza buena calidad por su alta capacidad de germinación en cultivos intensivos. El método convencional de *L. sativa* no considera prioritario la calidad, marca y variedad de la semilla para el control de la germinación, por tal motivo, el método establece, por primera vez, la selección y viabilidad de las semillas por origen y marca. Para ello, se obtuvieron cuatro diferentes marcas de semillas estandarizadas de alta calidad de lechuga de giro agroindustrial como insumos nacionales e internacionales, con base a los criterios que marca la normatividad mexicana (Rodrigues & Caixeta 2021) y certificadas en el mercado de insumos agroindustriales aprobados por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGARPA) en México (Rodrigues & Caixeta 2021).

Pruebas de viabilidad

A cada marca de semillas se le aplicó una prueba de viabilidad, siguiendo el método de cloruro de tetrazoilo ($C_{19}H_{15}ClN_4$),

colocando 30 semillas en 3 mL de cloruro de tetrazoilo, dejando reposar por 1h. Las semillas se activaron previamente en cámara húmeda con agua destilada estéril durante 15 h. La coloración rosada del embrión se diferenció con la observación directa en microscopía estereoscópica utilizando un microscopio marca OLYMPUS modelo EM62 (Gao & Feng 2015). La coloración rosada del embrión en cada semilla significa que es viable y puede germinar bajo condiciones óptimas de humedad y en un sustrato convencional (suelo) (Gao & Feng 2015, Rodrigues & Caixeta 2021).

Método de IGN y toxicidad

Para establecer el lote experimental de toxicidad, se aplicó el índice general nocivo (IGN), utilizando tres muestras de semillas bajo dos concentraciones diferentes de agua residual, las cuales se obtuvieron de agua residual industrial proveniente de la planta RECICLAGUA del municipio de Lerma en el estado de México. Las concentraciones del agente tóxico (AT) fueron: concentración alta (70%) y baja (30%), mientras que los grupos control se realizaron con agua destilada.

El diseño experimental se aplicó bajo un esquema por lotes aleatorios considerando las variables: concentración del

AT, marca y procedencia de la semilla, número de semillas y presencia de luz/obscuridad. Se realizaron 64 tratamientos, de los cuales 32 tratamientos fueron con 10 semillas y 32 tratamientos con 30 semillas, dando un total de 715 semillas por marca. Los tratamientos utilizaron círculos de papel filtro Whatman No. 40 colocados en cajas Petri, se humedecieron con 5-10 mL de solución tóxica del AT y agua destilada, dejando incubar las cajas a 36°C por 6-8 días. Posterior a los días de incubación, se realizó la medición de la longitud de la raíz con las semillas germinadas, se contabilizaron y se registró la calidad de la elongación (color). De igual forma se observó si existía la presencia de moho sobre las semillas ya que es una evidencia de la inocuidad proveniente de la marca (Krebs 2014, Gao & Feng 2015).

Parámetros de evaluación

Con las semillas que resultaron viables y germinaron, se evaluaron los parámetros de longitud de raíz y número de semillas germinadas para aplicarlos en el modelo de IGN con las 715 semillas totales, tal y como se muestra en la tabla I.

Tabla I. Variedad de semillas obtenidas por marca.

Marca	Variedad	Número	Origen	% Germinación	% Pureza	Semillas inertes
1	Great Lakes 118 (tipo bola)	150	Francia	>87	99%	1%
2	Great Lakes 118 (tipo bola)	450	Francia	>87	99%	1%
3	Great Lakes 118 (tipo bola)	450	México	NA	NA	NA
4	Lechuga Orejona	450	Francia	>88%	99%	1%

NA: No Aplica (información no proporcionada)

Resultados y discusión

Pruebas de viabilidad

La tabla II muestra los resultados de viabilidad obtenidos con el cloruro de tetrazoilo ($C_{19}H_{15}ClN_4$), en las semillas de las cuatro marcas experimentales.

La tabla III muestra los resultados de germinación obtenidos a dosis alta y baja del agua residual industrial con los valores promedio del porcentaje de germinación y longitud de la raíz en los dos experimentos realizados.

Sobre los porcentajes de viabilidad y germinación, todas las marcas presentaron una germinación baja, siendo la marca 3 la que tuvo el más bajo resultado con un 0%. Los resultados de viabilidad muestran una incompatibilidad con las especificaciones del producto. Se demuestra que la viabilidad sí influye en los resultados de

la germinación de los experimentos montados con el agente tóxico.

Para las marcas 2, 3 y 4, no hay respuesta a la germinación debido a la baja viabilidad que tienen, sin embargo, se asume que el efecto toxicológico del agente está influyendo sobre las pocas semillas viables de la marca; es decir, el AT está inhibiendo la baja germinación de las semillas, por lo tanto, no hay efecto tóxico cuantificable a dosis alta y baja del AT. Esto demuestra que pueden existir falsos positivos en dosis toxicológicas con el modelo de *L. sativa* (Armiard *et al.* 2022, Gao & Feng 2015). La longitud de la raíz de las semillas no es de buena calidad dado que obtuvo valores menores a 5 mm, así como la calidad en la coloración, ya que una coloración café es indicativa de una raíz no viable. Por tal motivo, se determina que el origen y viabilidad de

Tabla II. Porcentaje de viabilidad y germinación con cloruro de tetrazoilo ($C_{19}H_{15}ClN_4$).

Marca	Variedad	Número	% de germinación ($C_{19}H_{15}ClN_4$)	País
1	Great Lakes 118 (tipo bola)	150	54	Francia
2	Great Lakes 118 (tipo bola)	450	3.33	Francia
3	Great Lakes 118 (tipo bola)	450	---	México
4	Lechuga Orejona	450	13.33	Francia

Tabla III. Germinación, longitud de raíz y coloración de semillas germinadas en los bioensayos.

Dosis	Variedad	Calidad de coloración	% de germinación con agua residual de RECICLAGUA	Longitud de la raíz (mm)
Alta	Great Lakes 118	Café	54	< 5
Baja	(tipo bola)	Café	54	< 5
Alta	Great Lakes 118	Café	3.33	< 5
Baja	(tipo bola)	Café	3.33	< 5
Alta	Great Lakes 118	Café	0	0
Baja	(tipo bola)	Café	0	0
Alta	Lechuga Orejona	Café	13.33	< 5
Baja		Café	13.33	< 5

las semillas, sí influye en los resultados de efecto toxicológico de los agentes sobre el modelo de la *L. sativa* (Gao & Feng 2015, Rodrigues & Caixeta 2021).

Bioindicadores de toxicidad y ecotoxicidad de comparación (hongos, bacterias, plantas y animales)

Con base a los resultados obtenidos, se hace una revisión y propuesta de nuevas alternativas para la mejora de este modelo de toxicidad. En la tabla IV damos a conocer nuevos ejemplos de parámetros de toxicidad y ecotoxicidad que permitan

evidenciar un efecto más cuantificable de la vulnerabilidad de los organismos ante los contaminantes de aguas residuales industriales (Armiard *et al.* 2022, Zezulka & Kummerová 2023, Krebs 2014, Gao & Feng 2015, Martínez-Silva 2015, Ulloa 2015, Atias 2021, SAGARPA 2023).

Parámetros biológicos cuantificables con amplia aplicación como modelos de toxicidad y ecotoxicidad (Armiard *et al.* 2022, Zezulka & Kummerová 2023, Krebs 2014, Gao & Feng 2015, Martínez-Silva 2015, Ulloa 2015, Atias 2021, SAGARPA 2023).

Tabla IV. Ejemplos de nuevos parámetros y bioindicadores de toxicidad y ecotoxicidad.

Parámetro	Bioindicador			
	Bacterias	Hongos	Plantas	Animales
Radiosexual	–	–	-Flor monoica. -Flor dioica. -Presencia de frutos. -Presencia de semillas. -Presencia de polinizadores.	-Presencia de hembras y machos. -Densidad de hembras y machos.
Reproducción	-Densidad poblacional (UFC). -Modificación en crecimiento poblacional.	-Densidad poblacional (UFC). -Modificación en crecimiento poblacional. -Presencia de estructuras reproductoras y densidad de esporas.	-Crecimiento poblacional de las plántulas. -Modificación en la viabilidad de las plántulas. -Crecimiento poblacional desmedido (plagas).	-Crecimiento poblacional de las crías. -Modificación en la viabilidad de las crías. -Crecimiento poblacional desmedido (plagas).
Nutrición	-Concentración de nutrientes (N, C, P) -Concentración de subproductos (CO ₂ , monóxidos, dióxidos, O ₂ , homeostasis bioquímica (equilibrio de reacciones))	-Concentración de nutrientes (N, C, P y materia orgánica). -Concentración de subproductos (CO ₂ , monóxidos, dióxidos, O ₂ , homeostasis bioquímica (equilibrio de reacciones), antibióticos y metabolitos secundarios.	-Fotosíntesis -Concentración de clorofila. -Tasa de respiración fotosintética. -Intercambio CO ₂ , O ₂ . -Concentración de carbohidratos y almidón (raíz, frutos). -Equilibrio homeostático.	-Respiración -Concentración de hemoglobina -Producción de ATP -Producción de CO ₂ -Producción de lípidos y glucógeno -Equilibrio homeostático, proteínas y enzimas.

Al realizar una comparación del alcance que tiene el modelo de *L. sativa* con la lista de parámetros y variables de los bioindicadores propuestos en la tabla IV, se obtiene un campo amplio de oportunidades ambientales para diseñar nuevos métodos de evaluación de cada variable, la integración de varios parámetros para un caso específico, el uso de modelos predictivos y el conocimiento real de los efectos nocivos de los contaminantes sobre sistemas acuáticos (Armiard *et al.* 2022, Zezulka & Kummerová 2023, Krebs 2014, Gao & Feng 2015, Martínez-Silva 2015, Ulloa 2015, Atias 2021, SAGARPA 2023). Basados en los resultados de *L. sativa*, es necesario considerar nuevas propuestas de bioindicadores que apoyen con la evaluación eficiente del efecto toxicológico ambiental y contribuyan con el cambio de paradigma actual, tal es el caso de las propuestas enlistadas en este trabajo (Armiard *et al.* 2022, Zezulka & Kummerová 2023, Krebs 2014, Gao & Feng 2015).

Se demuestra que existe un bajo alcance del modelo de *L. sativa* como bioindicador de toxicidad, reflejado en el porcentaje de germinación, longitud y coloración de las raíces, ante contaminantes del agua residual industrial de RECICLAGUA. La baja viabilidad de semillas limita el resultado de sensibilidad, vulnerabilidad, resistencia y sobrevivencia de un organismo ante un contaminante tóxico. Se recomienda hacer uso de nuevos parámetros de toxicidad y ecotoxicidad con bacterias, hongos, plantas y animales a nivel orgánico y ecológico *in vitro* e *in situ*, mostrando algunos ejemplos como el radio sexual, reproducción y nutrición de organismos.

Agradecimientos

Agradecemos a dos árbitros anónimos quienes realizaron valiosos comentarios, mismos que ayudaron mejorar el presente documento.

Referencias

Armiard, J. C., C. Armiard-Triquet & C. Mouneyrac. 2022. Aquatic Ecotoxicology: advancing tools for dealing with emerging risks. 11va. Edición. Ed. Elsevier. Amsterdam.

Atias, A. 2021. Parasitología Médica. Ed. Mediterráneo. España. pp. 164-180.

Fossi, M. & C. Panti. 2018. Marine Mammal Ecotoxicology, Impacts of Multiple Stressors on Population Health. Elsevier. 2a, edición. USA.

Gao, Y. & J. Feng. 2015. Prediction of acute toxicity of cadmium and lead to zebrafish larvae by using a refined toxicokinetic-toxicodynamic model. Aquatic Toxicology. 169. 37-45.

Krebs, C. J. 2014. Ecología: Estudio de la distribución y la abundancia. 6ta. Edición, Ed. Pearson Education Limited.

Martínez-Silva, P. 2015. Variación espacio-temporal de microalgas acuáticas del embalse de Betania - Huila y su relación con la calidad del agua. Intrópica 10(1): 11-19.

Rodrigues, C. & A. Caixeta. 2021. Gonadal histopathology and inflammatory response in the freshwater snail exposed to iron oxide nanoparticles and ferric chloride: Insights into reproductive nanotoxicity. Aquatic Toxicology 237: 223-23.

SAGARPA. 2023. Listado de semillas y Banco de semillas de calidad para hortalizas de protección. Diario Oficial de la Federación. 2022. México. 102-107.

Sparling, D. W. 2016. Ecotoxicology Essentials: Environmental contaminants and their biological effects of animals and plants. Ed. Academic Press y Elsevier. London UK.

Ulloa, M. 2015. Taxonomía de hongos inferiores, descripción e importancia. FCE. 2a. México. pp. 23-180.

Zezulka, S. & M. Kummerová. 2023. Ambiguous changes in photosynthetic parameters of *Lemna minor* L. after short-term exposure to naproxen and paracetamol: Can the risk be ignored? Aquatic Toxicology 259: 125-134.