

## IONOMA RADICAL DE *Sedum praealtum* POR MICROANÁLISIS SEM-EDX EN PRESENCIA DE ARSÉNICO Y CADMIO Y LA ADICIÓN DE AGENTES QUELANTES

Radical ionome of *Sedum praealtum* by SEM-EDX microanalysis in presence of arsenic and cadmium and chelating agents' addition

Alfredo CRUZ-OREA<sup>1</sup>, María Fernanda LÓPEZ-GÓMEZ<sup>2</sup> y Angélica RODRÍGUEZ-DORANTES<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Estudios Avanzados, Instituto Politécnico Nacional, Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, 07360 Ciudad de México, México.

<sup>2</sup> Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación Carpio y Plan de Ayala s/n, 11340 Ciudad de México, México.

\*Autora para correspondencia: [rodorantes@yahoo.com.mx](mailto:rodorantes@yahoo.com.mx)

(Recibido: septiembre 2022; aceptado: agosto 2023)

Palabras clave: microscopía electrónica de barrido, rayos-X, raíz, análisis elemental.

### RESUMEN

La ionómica considera la evaluación cualitativa y cuantitativa de la composición elemental y sus cambios en la fisiología de los organismos. La aplicación de la técnica de microscopía electrónica de barrido con la evaluación espectroscópica de la energía de dispersión por rayos X (SEM-EDX: Scanning Electron Microscopy with Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy) es un análisis adecuado de ella, ya que informa sobre la localización y composición química elemental en muestras biológicas. En este trabajo se analizó el ionoma radical de *Sedum praealtum* bajo la presencia de arsénico y cadmio con la adición de agentes quelantes. Se evaluó la distribución elemental semicuantitativa de P, K, Ca, Cu, Fe, Mn, Mg, Ni, Zn, Mo, As y Cd por microanálisis SEM-EDX en fragmentos de raíz agrupados en cuatro regiones desde el ápice hasta el inicio de la zona de diferenciación. Se obtuvo como patrón de distribución importante el de la sinergia entre el As y el Cd y el agente quelante, el ácido etilendiaminatetraacético (EDTA). Se obtuvo el mayor porcentaje elemental bajo la sinergia entre el As y el Cd y el agente quelante, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como patrón de la inmovilización elemental en la superficie radical de esta especie, que dio evidencia de los sitios de absorción y transporte de nutrientes en las zonas radicales.

Key words: Scanning electron microscopy, X-ray, roots, elemental analysis.

### ABSTRACT

Ionomics considers the qualitative and quantitative evaluation of elemental composition and its changes in the organism physiology. The scanning electron microscopy with energy-dispersive x-ray spectroscopy evaluation (SEM-EDX) technique is and adequate analysis for it because informs about elements localization and chemical composition in biological samples. The present work analyzed the *Sedum praealtum* radical ionome by the effect of arsenic and cadmium presence and chelating agent addition. Qualitative elemental distribution of P, K, Ca, Cu, Fe, Mn, Mg, Ni, Zn, Mo, As

and Cd was evaluated by SEM-EDX microanalysis in root fragments organized in four regions that involved the root tip to the early differentiation zone. The most important pattern obtained was the synergy between As, Cd and ethylenediamine tetraacetic acid chelating agent (EDTA). The highest elemental percentage was obtained under the synergy between As, Cd and ethylenediaminetetraacetic acid chelating agent (EDTA), as an elemental immobilization pattern in the radical surface of this plant species, giving evidence of the sites to absorption and transport of nutrients in the root zones.

## INTRODUCCIÓN

La ionómica considera la evaluación cualitativa y cuantitativa de la composición elemental (Lahner et al. 2003) y en las plantas esta incluye el papel funcional de los macronutrientes: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), azufre (S) y magnesio (Mg) y los micronutrientes: hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), cobalto (Co) y zinc (Zn). Dicha composición se asocia no solamente con el transporte de iones desde la solución del suelo a la atmósfera (Salt et al. 2008), sino también con los mecanismos de respuesta química ante la presencia de metales pesados (Singh et al. 2016) y con la acción de agentes suplementarios quelantes como el ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) y ácidos orgánicos como el ácido oxálico (AOx), que favorecen la movilidad de los elementos químicos (Turgut et al. 2004, Gosh y Singh 2005, Liu et al. 2008).

El análisis de energía dispersiva de rayos X (EDX) es una técnica de análisis elemental asociada a microscopía electrónica de barrido basada en la generación de rayos X característicos para los elementos químicos. Este análisis evalúa de manera semicualitativa y semicuantitativa los elementos acumulados en las superficies, que con imágenes altamente detalladas de éstas dan información sobre la distribución elemental química (Aller 1989, Lyman et al. 1990, Marmiroli et al. 2003, Storey y Leigh 2004, Wójcik et al. 2005, Cocozza et al. 2008, Lombi et al. 2011, Scimeca et al. 2018). Estos análisis también emplean de manera complementaria herramientas estadísticas multivariadas, como el análisis de componentes principales (ACP) y los análisis de agrupamiento (*cluster analysis*) que permiten la comparación de los perfiles elementales y visualizar mejor su distribución en la superficie (Chiappe et al. 2019, Pereira et al. 2021). En las plantas, la resolución espacial de este microanálisis varía con la magnificación y el potencial energético determinado por la distancia y energía del haz de luz que se establece entre éste y la muestra.

Las mediciones por EDX para muestras biológicas requieren de técnicas de preparación especiales

para la definición de la topología de la superficie bajo análisis; esto porque la estructura y composición elemental de sus compartimentos intracelulares y extracelulares varían dependiendo del estado funcional de las células. En particular, los análisis elementales de raíces a una resolución espacial desde el ápice radical hasta la zona de diferenciación revelan información sobre su crecimiento y transporte de nutrientes (Di Baccio et al. 2009). Dado que las respuestas fisiológicas de las plantas constituyen un punto de partida sobre el conocimiento de la dinámica y estrategias de remoción de contaminantes (fitoextracción) y que la adición de agentes quelantes favorece la disponibilidad de nutrientes esenciales y la de elementos contaminantes como los metales pesados (Reeves y Baker 2000, Gosh y Singh, 2005), el presente trabajo analizó el efecto de la presencia de As y Cd y la adición de agentes quelantes (EDTA y ácido oxálico), en la dinámica del ionoma radical de *Sedum praealtum* a través de su distribución elemental por microanálisis SEM/EDX.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Establecimiento de cultivos hidropónicos para obtención de las plántulas de *Sedum praealtum*

Se recolectaron 45 plántulas de *Sedum praealtum* A. DC., de las áreas verdes de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, las cuales se cortaron a una longitud de 4.5 cm a partir del brote; se lavaron con agua corriente, el tallo se desinfectó con hipoclorito de sodio a 10 % (a partir de cloro comercial) y se enjuagó con agua destilada. Cada esqueje se colocó en frascos de vidrio de 5.8 cm × 5.8 cm × 6.7 cm con tapas magenta (Sigma-Aldrich, Co.) perforadas, que contenían 100 mL de solución mineral (NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.20 M, Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 1.15 M, CaCl<sub>2</sub> 0.26 M, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.40 M, KNO<sub>3</sub> 1.20 M, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 1.2 × 10<sup>-2</sup> M, CuCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 1.2 × 10<sup>-4</sup> M, ZnCl<sub>2</sub> 2.3 × 10<sup>-3</sup> M, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 4.4 × 10<sup>-4</sup> M, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 6 × 10<sup>-6</sup> M, Na<sub>2</sub>-EDTA 7.2 × 10<sup>-3</sup> M y FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 7.1 × 10<sup>-3</sup>

M, pH = 6) en proporción 1:4 según lo recomendado por Rojas-Contreras et al. (2010), con la adición de ácido indol butírico (AIB) con una concentración de 0.1 mg/L, para la inducción de raíces. Las plantas se mantuvieron bajo condiciones controladas de invernadero por 35 días; después de este tiempo las plantas enraizadas se colocaron en solución mineral concentrada y se mantuvieron nuevamente bajo condiciones de invernadero por 25 días más para su exposición a As y Cd con la adición de los agentes quelantes.

### **Cultivo de las plantas de *Sedum praealtum* con la presencia de arsénico y cadmio y la adición de agentes quelantes**

Las plantas enraizadas de *Sedum praealtum* se desinfectaron con alcohol a 96 % y posteriormente con hipoclorito de sodio a 10 % por un minuto, se enjuagaron con agua destilada estéril tres veces; cada plántula se transfirió a frascos de vidrio de 5.8 cm × 5.8 cm × 6.7 cm con tapas magenta (Sigma-Aldrich, Co.) perforadas que contenían 100 mL de la solución mineral 1:4 antes mencionada y con la selección de las concentraciones de As y Cd y de los agentes quelantes recomendadas de trabajos previos con esta especie- Las siguientes condiciones experimentales fueron las siguientes: Testigo: plantas crecidas solamente en solución mineral (con la concentración básica de EDTA), AOx: plantas crecidas en solución mineral con la adición de ácido oxálico (5 mM), As: plantas crecidas en solución mineral con la adición de arsénico (1 mM de Na<sub>2</sub>HAsO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), Cd: plantas crecidas en solución mineral con la adición de cadmio (1 mM de 3CdSO<sub>4</sub>·8H<sub>2</sub>O), As + EDTA: plantas crecidas en solución mineral con la adición de arsénico y Na<sub>2</sub>-EDTA (5 mM), As + AOx: plantas crecidas en solución mineral con la adición de arsénico y ácido oxálico (5 mM), Cd+ EDTA: plantas crecidas en solución mineral con la adición de cadmio y Na<sub>2</sub>-EDTA, Cd + AOx: plantas crecidas en solución mineral con la adición de cadmio y ácido oxálico. Los experimentos se realizaron por triplicado y las plantas se mantuvieron bajo condiciones controladas de invernadero por 10 días con la obtención del material radical al final de la exposición.

### **Microanálisis de la distribución elemental en el sistema radical de *Sedum praealtum***

#### ***Preparación de muestras de las raíces***

Al término del período experimental se cortaron cinco raíces de 1.5 cm de longitud por planta de *Sedum praealtum* de cada condición, considerando éstas desde el ápice hasta el inicio de la zona de diferenciación. Se depositaron en tubos Eppendorff de 1.5 mL

de capacidad y se mantuvieron bajo condiciones de nitrógeno líquido y posteriormente se liofilizaron a -50 °C por una hora (Liofilizadora Heto Drywinner). Las muestras liofilizadas se prepararon directamente depositándose en cilindros porta-muestras de aluminio fijadas con cinta doble de cobre; se cubrieron con oro coloidal en una desionizadora Denton Vacuum Modelo Desk I, listas para su observación por microscopía electrónica de barrido.

### **Microanálisis SEM/EDX**

El microanálisis SEM/EDX se realizó empleando el microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-7401F equipado con un detector Oxford X-Ray Si (Li) con una ventana de berilio (Be). El voltaje de excitación fue de 20 kV con una distancia de trabajo de 8 mm y un tiempo efectivo de adquisición del barrido elemental (*scan*) de 60 s más un tiempo muerto de 20/25 %. La profundidad de penetración del haz de luz se estableció a 10 μm con la sustracción automática del fondo con el software Aztec Energy 5.0, que incluyó el apoyo de un banco de datos de estándares internos. Se realizó la evaluación semicuantitativa (porcentaje atómico -Atom %-) en la superficie de las muestras de raíces seleccionadas (nueve réplicas por muestra), divididas en 10 fragmentos clasificados en cuatro regiones: Región I = fragmentos A (ápice) 1, 2; Región II = fragmentos 3, 4, 5; Región III = fragmentos 6, 7, 8 y Región IV = fragmentos 9, 10; de los macroelementos N, P, K y Ca, los microelementos Fe, Cu, Mn, magnesio (Mg), níquel (Ni), Zn y Mo y los, así como As y Cd. Se consideró un aumento de 80 X como factor estándar para efectuar la comparación de los datos obtenidos.

### **Análisis estadístico de los resultados**

Los porcentajes elementales determinados en los perfiles de distribución radical se representaron en mapas de calor, empleando el programa MeV (Multi Experiment Viewer) Ver. v4.8.1. que se analizaron considerando las diferentes condiciones experimentales probadas (Testigo, AOx, As, As+EDTA, As+AOx, Cd, Cd+EDTA, Cd+AOx) y la distribución por región radical. Con este programa se realizó también de forma simultánea un análisis numérico comparativo multivariado de agrupamiento (*cluster*), con la aplicación del coeficiente de distancia convencional y la construcción del fenograma respectivo utilizando el método de agrupamiento UPGMA (unweighted pair group method of arithmetic averages). También se estableció la veracidad y confianza de los fenogramas obtenidos a través de la obtención del coeficiente de correlación producto-momento de Pearson.

## RESULTADOS

Considerando la importancia del empleo de las técnicas de microscopía electrónica de barrido para visualizar la morfología superficial de las plantas antes y después de la unión elemental que permite la observación directa de cualquier cambio en ésta, la **figura 1**, muestra las imágenes representativas de las secciones radicales de *S. praealtum* con sus espectros SEM/EDX característicos.

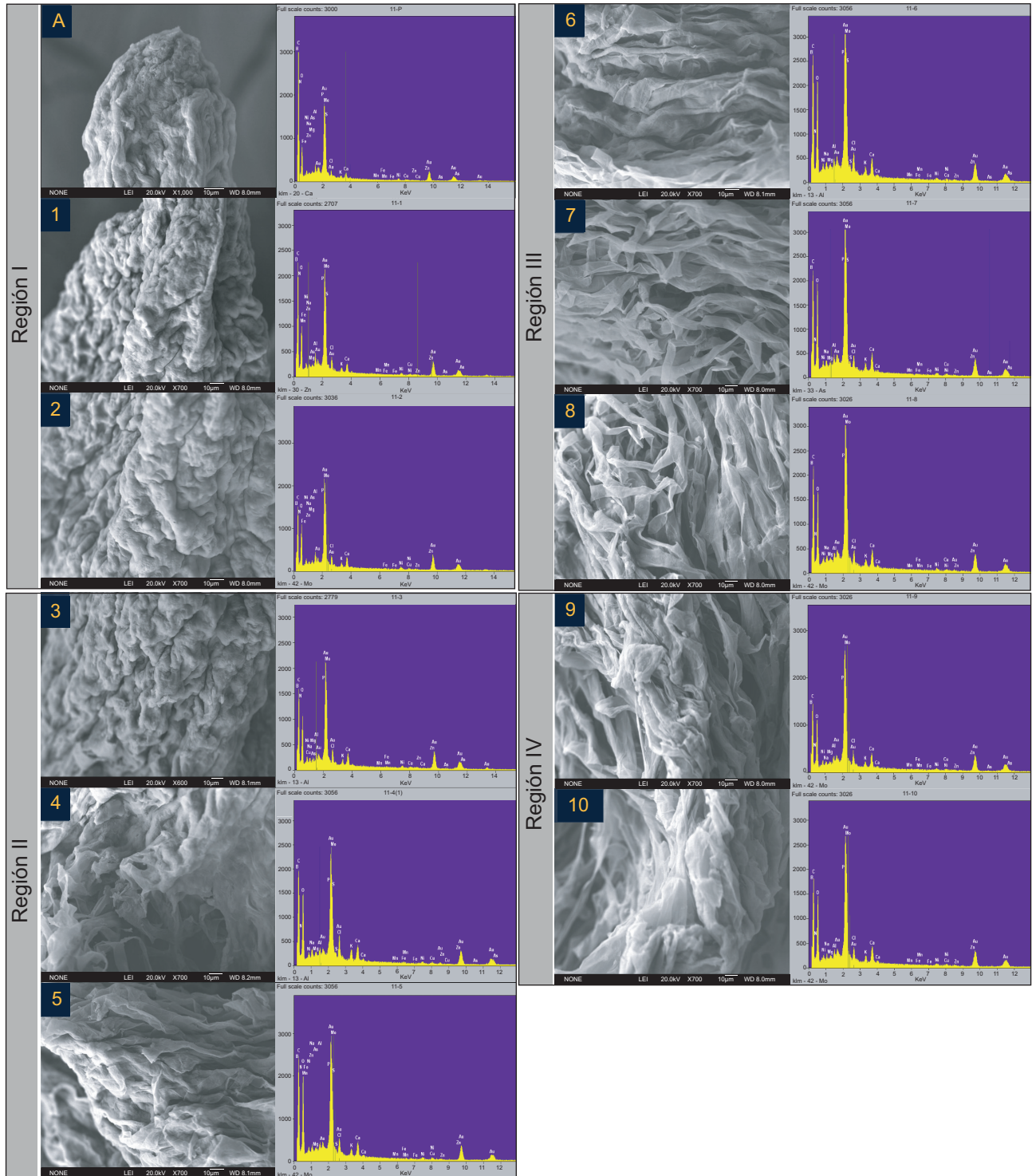
Se muestra en la **figura 2** la distribución elemental determinada en los fragmentos radicales de las plantas de *Sedum praealtum* bajo las diferentes condiciones experimentales a través de su representación por los mapas de calor. Los gradientes de la intensidad de los colores (unidades arbitrarias (UA): de 0 a 5) corresponden a la variación de la presencia de los elementos químicos analizados, mostrando también el análisis de agrupamiento entre éstos y las condiciones experimentales. El agrupamiento bajo la presencia de As y Cd y la adición de los agentes quelantes dio respuestas similares. Otra asociación evidente fue la obtenida entre las regiones radicales bajo las condiciones testigo (T), Cd y Cd+EDTA, con la intensidad de respuesta mayor. El mayor porcentaje elemental medido fue el de nitrógeno en todas las condiciones experimentales y regiones de las raíces de *Sedum praealtum*, asociado con K, Mn y Zn como un solo grupo y asociado con el grupo constituido por Ni, Ca y Fe y finalmente con último grupo conformado por P, Cu, Mg y Mo. La suma del porcentaje total de los elementos esenciales en las cuatro regiones radicales comparando todas las condiciones experimentales probadas evidenció que los elementos comunes con mayor porcentaje fueron el Ca y el P y los de menor porcentaje fueron el Fe, el Zn y el Mn. Los elementos con porcentajes intermedios y comportamiento de distribución radical variable fueron Cu, Ni, Mo y K. El porcentaje determinado de As y Cd en las regiones de los fragmentos radicales según la condición experimental fue el siguiente: As+EDTA de 10.21 %; As + AOX de 5.29 %; As de 3.79 %; Cd+EDTA de 13.68 %; Cd+AOx de 6.17 % y Cd de 5.94 %. Las **figuras 3a** y **3b** muestran sus perfiles de distribución, donde la condición experimental de As+AOx para las cuatro regiones radicales resultó un grupo muy homogéneo, seguido del grupo de las regiones I, II y III en presencia de As, con asociaciones particulares entre los elementos en un grupo común: N, K, P, Ca y Fe relacionado con el grupo conformado por: Mn, Ni, Mg, Zn, Cu, Mo y As (**Fig. 3a**). Para Cd, se evidenció la asociación clara de las cuatro regiones

radicales con las condiciones de Cd+EDTA, Cd y Cd+AOx, donde las dos últimas tuvieron una respuesta parecida. También la presencia de Cd mostró la asociación de tres grupos bien definidos; el primero conformado por: N, Mn y Ni, el segundo por: Fe, P, Mg y Cu y finalmente un tercer grupo con: Mo, Ca, Zn, K y Cd (**Fig. 3b**).

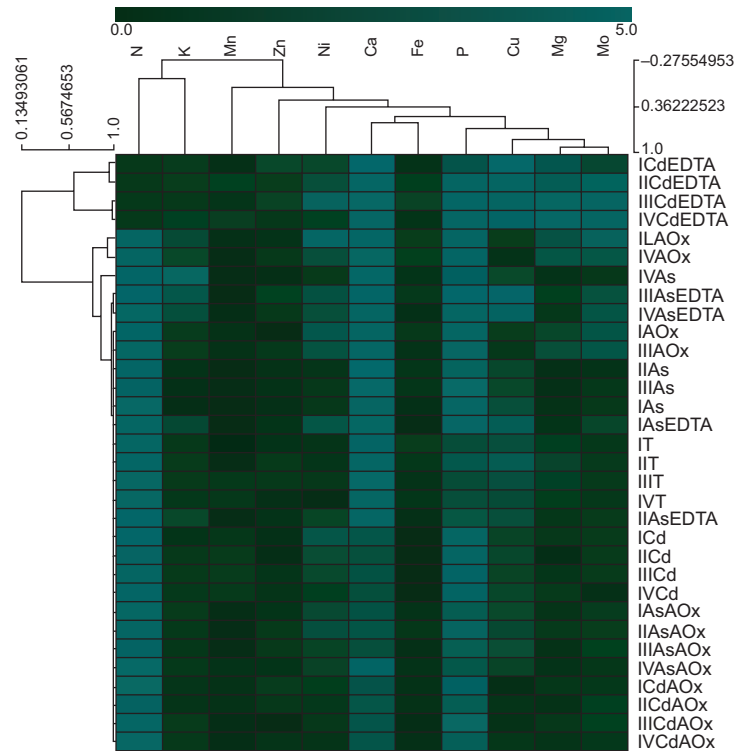
## DISCUSIÓN

### Comportamiento elemental radical en *Sedum praealtum*

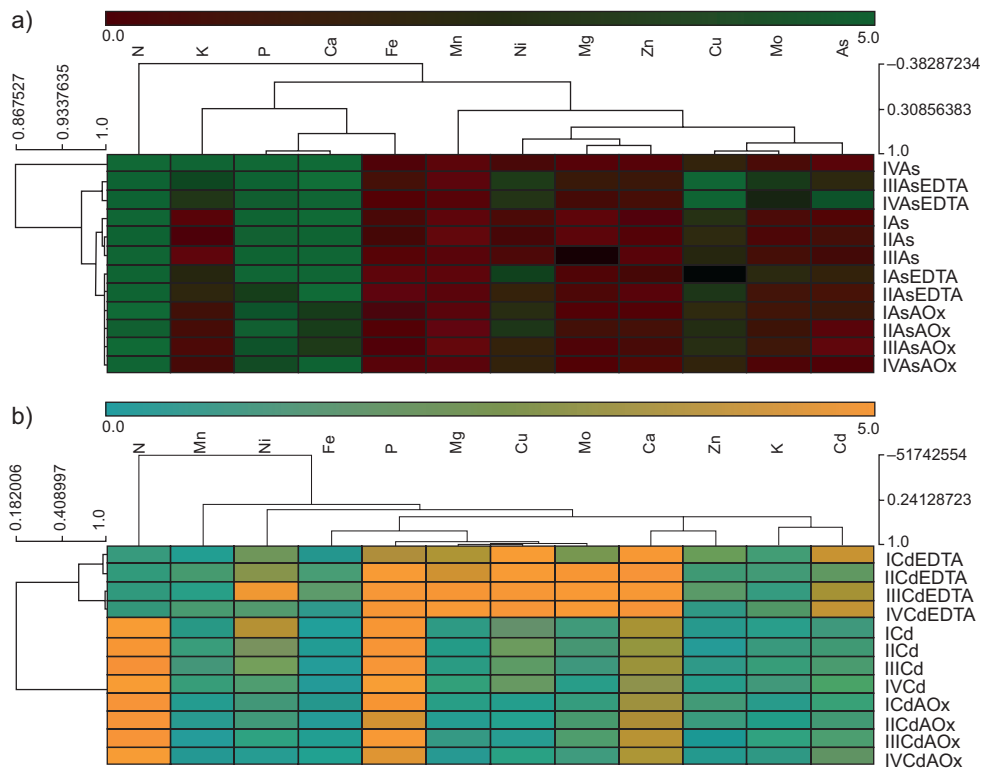
La evaluación del ionoma en las plantas implica que éste varía de manera directa cuando incluye cambios en la concentración de nutrientes que puede restringirse a los tejidos radicales o indirecta cuando se dan cambios a nivel de la estructura de la pared celular (Yang et al. 1998, Salt et al. 2008, Singh et al. 2016). El porcentaje determinado de K, Ca, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn en las raíces de *Sedum praealtum* resultó acorde con la concentración que se reporta en las plantas vasculares (Reeves y Baker 2000, Sánchez-Mata et al. 2014) donde también los agentes quelantes (que comúnmente son de naturaleza sintética) favorecen la movilización y acumulación elemental (Piechalak et al. 2003, Turgut et al. 2004, Liu et al. 2008). La adición de los agentes quelantes EDTA y AOX incrementó la adsorción de As y Cd a la superficie radical de las plantas de *Sedum praealtum*, siendo más efectiva ésta en presencia de EDTA. Lu et al. (2014) reportan que la presencia de altas concentraciones de EDTA en los cultivos de *Zea mays* y *Phaseolus vulgaris* favorece la acumulación de Cu, Pb, Zn y Cd. Liu et al. (2008) también mencionan que el EDTA resultó más efectivo que el AOX, al favorecer la acumulación de Cu y Cd en plantas de *Sedum alfredii*. No obstante que la eficiencia del AOX como agente quelante es menor, se ha demostrado que este ácido orgánico facilita la acumulación de Ca y Mn en las plantas (Dou et al. 2009). En este estudio, la adsorción de los macro y micronutrientes analizados en la superficie radical de *Sedum praealtum* incrementó su porcentaje total en las condiciones de Cd+EDTA: 3.22, AOX: 2.29, As: 1.95 y As+EDTA: 1.7 veces más que bajo la condición testigo que representó la movilización de nutrientes adecuada (100 %). Se demostró que la presencia de As influyó sobre la adsorción de N, K, Ca, Mg, B, Cu, Mn y Zn como lo reportan Carbonell- Barrachina et al. (1997), ya que al absorberse éste por las raíces en sales de arsenito o arsenato, se transporta al interior de la planta de forma similar a las sales de fosfato. Se ha reportado



**Fig. 1.** Micrografías de 10 fragmentos analizados de una muestra radical de *Sedum praealtum*: región I (fragmentos A, 1, 2), región II (fragmentos 3, 4, 5), región III (fragmentos 6, 7, 8) región IV (fragmentos 9, 10), con sus respectivos perfiles elementales obtenidos por energía dispersiva de rayos X.



**Fig. 2.** Análisis por mapa de calor que resume la distribución global elemental en las regiones radicales de *Sedum praealtum* (valores promedio con el empleo de una escala de colores, donde el color azul indica un incremento y el color verde un decremento en los valores). EDTA = agente quelante, ácido etilendiaminatetraacético.



**Fig. 3.** Análisis por mapa de calor que resume la distribución global elemental en las regiones radicales de *Sedum praealtum*: a) con la presencia de As (valores promedio con el empleo de una escala de colores, donde el color verde indica un incremento y el color rojo un decremento en los valores) y b) con la presencia de Cd (valores promedio con el empleo de una escala de colores, donde el color amarillo indica un incremento y el color azul un decremento en los valores).

también que su presencia favorece el incremento en la concentración de P en la solución mineral lo que evidencia su baja movilización (Shaibur et al. 2009). En este estudio, la respuesta de *Sedum praealtum* es similar a la reportada por Shaibur et al. (2009) ya que sugiere algún mecanismo de adsorción de P que favoreció su incremento hacia la zona distal del ápice y de disminución del porcentaje de As. El porcentaje de Cd determinado en las raíces de *Sedum praealtum* fue mayor que el de As; lo que sugiere que éstas favorecieron su adsorción, respuesta que coincide con lo reportado por Zhou y Qiu (2005) en las raíces de *Sedum alfredii* y con los resultados de Drazic et al. (2006) en plantas de *Medicago sativa*.

### Distribución radical elemental en *Sedum praealtum*

De acuerdo con Lombi et al. (2011) las raíces son el primer sitio de las plantas donde se tiene la interacción más directa con los elementos químicos en solución, sean esenciales o perjudiciales para ellas. Por ello, el análisis de los mecanismos de absorción y adsorción en las raíces es fundamental en la búsqueda de especies acumuladoras. Vaculík et al. (2012) mencionan que los cambios anatómicos de las raíces se pueden evaluar estableciendo áreas en raíces de una longitud de 1.2 a 1.5 cm desde el ápice radical, ya que en esta región los tejidos están diferenciados y se puede evaluar la absorción y adsorción de los elementos químicos. Esta zona se considera como una barrera parcial que en cierta forma favorece la movilidad elemental que al engrosarse se convierte en una barrera que obstruye la absorción de agua y nutrientes (Deng et al. 2004, Soukup et al. 2007). En este trabajo, el procesamiento de las muestras, que consistió en su ultracongelación bajo condiciones de nitrógeno líquido seguido de su liofilización, permitió la preservación de la integridad elemental nativa analizada en los segmentos radicales de *Sedum praealtum* que incluyó las zonas del ápice radical y de división celular (Regiones I y II, respectivamente), elongación (Región III) y parte del inicio de la zona de diferenciación (Región IV). Lo anterior coincide con lo reportado por Wang et al. (2007) en el análisis de distribución elemental radical de *Triticum aestivum* que evidencia la adsorción de nutrientes de forma puntual y localizada como también lo reportan Tsezos et al. (1997), Küpper et al. (2001) y Vázquez et al. (2007). La distribución y porcentaje elemental total en las cuatro regiones radicales de *Sedum praealtum* mostraron un comportamiento similar bajo las condiciones experimentales: Testigo de 21 a 28 % de la región I a la IV; Cd de 20 % en todas las regiones; As+AOx de 18 al 16 % de la región I a

la IV y Cd+AOx de 16 al 14 % de la región I a la IV. Para la condición de AOx la distribución elemental radical fue variable con porcentajes más altos en la región II, de 65.08 %, y en la región IV de 49.52 %. Como respuesta particular del porcentaje elemental por región en las raíces de *Sedum praealtum* la presencia de As favoreció el incremento en el porcentaje elemental distribuido desde el ápice hacia la zona de elongación radical con el siguiente orden: en la región I de 27.79 %, en la región II de 33 %, en la región III de 37.56 % y finalmente en la región IV de 68.48 %. El patrón de distribución elemental más importante que se obtuvo fue el de la sinergia entre As y Cd en el medio mineral con la adición del agente quelante EDTA en las regiones radicales. Para As+EDTA en las regiones III y IV de 48 % y para la condición Cd+EDTA en la región I de 54 %, en la región II de 65 % y en las regiones III y IV con el 78 %.

En estudios por EDX Lu et al. (2014) analizaron la distribución de Cu, Zn, Pb y Cd en las raíces de *Kandelia obovata*, considerando a la epidermis radical como la barrera principal al transporte de nutrientes y metales, y encontraron que la distribución de Cd, a través de escaneos en línea por SEM/EDX, mostró un gradiente radical con su mayor concentración en la región epidérmica que disminuye hacia la zona de la corteza. Vaculík et al. (2012) analizaron la distribución de Ca, K, S, Si, Mg, Zn y Cd en secciones radicales de *Salix caprea* con la distinción de tres zonas: la región central de las raíces (xilemática), la región externa epidérmica y la endodérmica, mostrando diferencias en la localización de Cd. Cocozza et al. (2011) también realizaron un análisis del potencial de absorción y acumulación de Cd en *Populus canadensis*, *Populus nigra*, *Salix alba* y *Salix* sp. y su interacción con macronutrientes a través de la determinación de su distribución elemental en fragmentos de raíces de aproximadamente 0.5 cm de longitud, en las zonas del ápice, la zona central (de elongación) y la zona distal (de diferenciación). Sus resultados indicaron que la longitud radical definió la absorción y la adsorción elemental y es un parámetro de análisis que permite evaluar la diferente sensibilidad de las especies vegetales a los metales (Boot y Mensik 1990, Wei y Zhou 2006, Zacchini et al. 2009).

Finalmente considerando los estudios antes mencionados, el microanálisis SEM/EDX realizado en *Sedum praealtum* evidenció la distribución radical y región-específica de los elementos esenciales y los metales probados, donde la acumulación de As y Cd tuvo un mayor porcentaje en las regiones III y IV, zonas distales al ápice radical, lo que sugiere una baja eficiencia de su transporte al interior de la raíz y

confirma que las zonas radicales de *Sedum praealtum* son sitios químicamente estables, como lo mencionan Marmioli et al. (2004). *Sedum praealtum* mostró tolerancia al As y al Cd, que se relaciona con su localización e interferencia en la distribución de los macronutrientes y micronutrientes analizados y que con la presencia de agentes quelantes participaron en la movilidad elemental en las raíces de esta especie.

## CONCLUSIONES

En este estudio, los perfiles elementales obtenidos evidenciaron resultados significativos sobre la distribución de macronutrientes, micronutrientes y metales en las regiones radicales de *Sedum praealtum*, con efectos tratamiento-específicos. Además de la notable adsorción de cadmio, el efecto de la adición de agentes quelantes como el EDTA se relacionó con la adsorción radical particular de calcio y fósforo. El empleo del microanálisis SEM/ EDX como técnica de importancia para la ionómica, proporcionó información sobre la adsorción elemental química en la superficie radical de esta especie, que constituye una barrera biomolecular en la absorción y transporte de nutrientes para las plantas.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo financiero otorgado por la Secretaría de Investigación y Posgrado del Instituto Politécnico Nacional a los Proyectos de Investigación SIP-20151927 y SIP-20202094, para la realización de este trabajo y también a la Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas (COFAA, IPN), EDI (Estímulo al Desempeño de los Investigadores, IPN) y al Sistema Nacional de Investigadores (SNI-CONAHCYT).

## REFERENCIAS

- Aller A.J. (1989). The atomic spectroscopies in the surface microanalysis: Analytical possibilities. *Química Analítica* 8, 427-444.
- Boot R.G.A. y Mensink M. (1990). Size and morphology of root systems of perennial grasses from contrasting habitats as affected by nitrogen supply. *Plant and Soil* 129, 291-299. <https://doi.org/10.1007/BF00032425>
- Carbonell-Barrachina A.A., Burl J.F., Burgos-Hernández A., López E. y Mataix J. (1997). The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plants. *Scientia Horticulturae* 71, 167-176. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(97\)00114-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(97)00114-3)
- Chiappe C., Pomelli C.S. y Sartini S. (2019). Combined use of scanning electron microscopy-energy-dispersive X-ray spectroscopy and Fourier transform infrared imaging coupled with principal component analysis in the study of ancient Egyptian papyri. *American Chemical Society Omega* 4, 22041-22047. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03145>
- Cocozza C., Maiuro L. y Tognetti R. (2011). Mapping cadmium distribution in roots of Salicaceae through scanning electron microscopy with x-ray microanalysis. *iForest- Biogeosciences and Forestry* 4, 113-120. <https://doi.org/10.3832/ifer0563-004>
- Cocozza C., Minnocci A., Tognetti R., Iori V., Zucchini M. y Scarascia M.G. (2008). Distribution and concentration of cadmium in root tissue of *Populus alba* determined by scanning electron microscopy and energy-dispersive x-ray microanalysis. *iForest-Biogeosciences and Forestry* 1, 96-103. <https://doi.org/10.3832/ifer0458-0010096>
- Deng H., Ye Z.H. y Wong M.H. (2004). Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution* 132, 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.03.030>
- Di Baccio D., Tognetti R., Minnocci A. y Sebastiani L. (2009). Responses of the *Populus × euramericana* clone I-214 to excess zinc: carbon assimilation, structural modifications, metal distribution and cellular localization. *Environmental and Experimental Botany* 67, 153-163. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.05.014>
- Dou C., Fu X., Chen X., Shi J. y Chen Y. (2009). Accumulation and interaction of calcium and manganese in *Phytolacca americana*. *Plant Science* 177, 601-606. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.08.010>
- Drazic G., Mihailovic N. y Lojic M. (2006). Cadmium accumulation in *Medicago sativa* seedlings treated with salicylic acid. *Biologia Plantarum* 50, 239-244. <https://doi.org/10.1007/s10535-006-0013-5>
- Gosh M. y Singh S.P. (2005). A review of phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research* 3, 1-18. [https://doi.org/10.15666/aeer/0301\\_001018](https://doi.org/10.15666/aeer/0301_001018)
- Küpper H., Lombi E., Zhao F.J., Wieshammer G. y McGrath S.P. (2001). Cellular compartmentation of nickel in the hyperaccumulators *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*. *Journal of Experimental Botany* 52, 2291-2300. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.365.2291>
- Lahner B., Gong J., Mahmoudian M., Smith E.L., Abid K.B., Rogers E.E., Guerinot M.E., Harper J.F.,



- Ward J.M., McIntyre L., Schroeder J.I. y Salt D.E. (2003). Genomic scale profiling of nutrient and trace elements in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Biotechnology* 21, 1215-21. <https://doi.org/10.1038/nbt865>
- Liu D., Islam E., Li T., Yang X., Jin X. y Mahmood Q. (2008). Comparison of synthetic chelators and low molecular weight organic acids in enhancing phytoextraction of heavy metals by two ecotypes of *Sedum alfredii* Hance. *Journal of Hazardous Materials* 153, 114-122. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.08.026>
- Lombi E., Scheckel K.G. y Kempson I.M. (2011). *In situ* analysis of metal(loid)s in plants: State of the art and artefacts. *Environmental and Experimental Botany* 72, 3-17. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.04.005>
- Lu H., Liu B., Zhang Y., Ye J. y Yan Ch. (2014). Comparing analysis of elements sub cellular distribution in *Kandelia obovata* between SEM-EDX and chemical extraction. *Aquatic Botany* 112, 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2013.07.007>
- Lyman C.E., Newbury D.E., Goldsteins J.I., Williams D.B., Romig A.D., Armstrong J.T., Echlin P., Fiori C.E., Joy D.C., Lifshin E. y Peters K.R. (1990). Scanning electron microscopy, X-ray microanalysis, and analytical electron microscopy. A laboratory workbook. Plenum Press, Nueva York, EUA, pp. 407. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0635-1>
- Marmiroli M., Maestri E., Antonioli G. y Marmiroli N. (2003). Application of SEM/EDX and-SRXF analyses to describe metals distribution in *Zea mays* organs and tissues. *Journal de Physique IV* 104, 341-344. <https://doi.org/10.1051/jp4:200300095>
- Marmiroli N., Gonnelli C., Maestri E., Gabbriellini R. y Marmiroli N. (2004). Localisation of nickel and mineral nutrients Ca, K, Fe, Mg by scanning electron microscopy microanalysis in tissues of the nickel-hyperaccumulator *Alyssum bertolonii* Desv. and the non-accumulator *Alyssum montanum* L. *Plant Biosystems* 138, 231-243. <https://doi.org/10.1080/11263500400011126>
- Pereira F.J., Lopez R., Brasas M., Alvarez R. y Aller A.J. (2021). Synergism between SEM/EDX microanalysis and multivariate analysis for a suitable classification of Roman and Byzantine papyri. *Microchemical Journal* 160, 105688. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105688>
- Piechalak A., Tomaszewska B. y Barańkiewicz D. (2003). Enhancing phyto-remediation ability of *Pisum sativum* by EDTA application. *Phytochemistry* 64, 1239-1251. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00515-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00515-6)
- Reeves R.D. y Baker A.J.M. (2000). Metal-accumulating plants. En: *Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment.* (I. Raskin y B.D. Ensley, Eds.) Wiley-Interscience, Nueva York, EUA, 193-229 pp.
- Rojas-Contreras A., Rodríguez-Dorantes A.M., Montes-Villafán S., Pérez-Jiménez S., Rodríguez-Tovar A. y Guerrero-Zúñiga L.A. (2010). Evaluación de la promoción del crecimiento de *Cynodon dactylon* L. por rizobacterias productoras de fitohormonas aisladas de un suelo contaminado con hidrocarburos derivados del petróleo. *Polibotánica* 29, 131-147.
- Salt D.E., Baxter I. y Lahner B. (2008). Ionomics and the study of the plant ionome. *Annual Review of Plant Biology* 59, 709-733. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092942>
- Sánchez-Mata D., de la Fuente V., Rufo L., Rodríguez N. y Amils R. (2014). Localization of nickel in tissues of *Streptanthus polygaloides* Gray (Cruciferae) and endemic nickel hyperaccumulators from California. *Biological Trace Element Research* 157, 75-83. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9868-4>
- Scimeca M., Bischetti S., Lamsira H.K., Bonfiglio R. y Bonanno E. (2018). Energy Dispersive X-ray (EDX) microanalysis: a powerful tool in biomedical research and diagnosis. *European Journal of Histochemistry* 62, 2841. <https://doi.org/10.4081/ejh.2018.2841>
- Shaibur M.R., Kitajima N., Sugawara R., Kondo T., Imamul-Huq S.M. y Kawai Sh. (2009). Effect of arsenic on phytosiderophores and mineral nutrition on barley seedlings grown in iron-depleted medium. *Soil Science & Plant Nutrition* 55, 283-293. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00360.x>
- Singh S., Parihar P., Singh R., Singh V.P. y Prasad S.M. (2016). Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. *Frontiers in Plant Science* 6, 1143. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01143>
- Soukup A., Armstrong W., Schreiber L., Franke R. y Votrubova O. (2007). Apoplastic barriers to radial oxygen loss and solute penetration: A chemical and functional comparison of the exodermis of two wetland species, *Phragmites australis* and *Glyceria maxima*. *New Phytologist* 173, 264-278. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01907.x>
- Storey R. y Leigh R.A. (2004). Processes modulating calcium distribution in citrus leaves: An investigation using x-ray microanalysis with strontium as a tracer. *Plant Physiology* 136, 3838-3848. <https://doi.org/10.1104/pp.104.045674>
- Tsezos M., Remoudaki E. y Angelatou V. (1997). Biosorption sites of selected metals using electron microscopy. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 481-487. [https://doi.org/10.1016/S0300-9629\(97\)00009-1](https://doi.org/10.1016/S0300-9629(97)00009-1)
- Turgut C., Pepe M.K. y Cutright T.J. (2004). The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*. *Environmental Pollution* 131, 147-154. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.01.017>

- Vaculik M., Konlechner C., Langer I., Adlassnig W., Puschenreiter M., Lux A. y Hauser M.T. (2012). Root anatomy and element distribution vary between two *Salix caprea* isolates with different Cd accumulation capacities. *Environmental Pollution* 163, 117-126. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.12.031>
- Vázquez S., Fernandez-Pascual M., Sanchez-Pardo B., Carpena R.O. y Zornoza P. (2007). Subcellular compartmentalisation of cadmium in white lupins determined by energy-dispersive X-ray microanalysis. *Journal of Plant Physiology* 164, 1235-1238. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.11.011>
- Wang H., Shan X., Liu T., Xie Y., Wen B., Zhang S., Han F. y van Genuchten M.Th. (2007). Organic acids enhance the uptake of lead by wheat roots. *Planta* 225, 1483-1494. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0433-7>
- Wei S. y Zhou Q. (2006). Phytoremediation of cadmium-contaminated soils by *Rorippa globosa* using two-phase planting. *Environmental Science and Pollution Research* 13, 151-155. <https://doi.org/10.1065/espr2005.06.269>
- Wójcik M., Vangronsveld J., D'Haen J. y Tukiendorf A. (2005). Cadmium tolerance in *Thlaspi caerulescens*. II. Localization of cadmium in *Thlaspi caerulescens*. *Environmental and Experimental Botany* 53, 163-171. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.03.010>
- Yang M.J., Lin X.Y. y Yang X.E. (1998). Impact of Cd on growth and nutrient accumulation of different plant species. *Chinese Journal of Applied Ecology* 9, 89-94.
- Zacchini M., Pietrini F., Mugnozsa G.S., Iori V., Pietrosanti L. y Massacci A. (2009). Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. *Water, Air, and Soil Pollution* 197, 23-34. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9788-7>
- Zhou W. y Qiu B. (2005). Effects of cadmium hyperaccumulation on physiological characteristics of *Sedum alfredii* Hance (Crassulaceae). *Plant Science* 169, 737-745. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.05.030>