



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA Y REMOCIÓN DE DICLOFENACO EN SISTEMAS
IN VITRO DE RAÍCES AISLADAS Y PLANTAS COMPLETAS DE
Typha domingensis Pers.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MARÍA DEL CARMEN ALVARADO CORONEL

BAJO LA DIRECCIÓN DE:
DRA. VIOLETA RUIZ CARRERA

VILLAHERMOSA, TABASCO, A: MARZO DE 2026

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa, Tabasco, el día **06 de marzo de 2026**, el que suscribe **María del Carmen Alvarado Coronel** alumno del Programa de **Licenciatura en Biología** con número de matrícula **192G22064** adscrito a la **División Académica de Ciencias Biológicas** de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como **autora del trabajo recepcional de tesis** presentado para la obtención del título de Licenciada en Biología, titulado "**ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA Y REMOCIÓN DE DICLOFENACO EN SISTEMAS IN VITRO DE RAÍCES AISLADAS Y PLANTAS COMPLETAS DE *Typha domingensis* Pers**" dirigido por la Dra. Violeta Ruiz Carrera.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido del Desarrollo Tecnológico presentado de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 06 de marzo de 2026



María del Carmen Alvarado Coronel



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2026
año de
Margarita
Maza

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

Villahermosa, Tab., a 09 de Marzo de 2026


ASUNTO: Autorización de Modalidad de Titulación

C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a la **C. MARÍA DEL CARMEN ALVARADO CORONEL** egresada de la Lic. en **BIOLOGIA** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: **"ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA Y REMOCIÓN DE DICLOFENACO EN SISTEMAS *IN VITRO* DE RAÍCES AISLADAS Y PLANTAS COMPLETAS DE *Typha domingensis Pers.*"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica
C.c.p.- Interesado





UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2026
año de
Margarita
Maza

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

MARZO 09 DE 2026

**C. MARÍA DEL CARMEN ALVARADO CORONEL
PAS. DE LA LIC. BIOLOGIA
PRESENTE**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 111 al 113 del Cap. IV del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: "**ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA Y REMOCIÓN DE DICLOFENACO EN SISTEMAS *IN VITRO* DE RAÍCES AISLADAS Y PLANTAS COMPLETAS DE *Typha domingensis Pers.***", asesorado por la Dra. Violeta Ruiz Carrera, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por el Dr. Alberto de Jesús Sánchez Martínez, Dra. Erika Escalante Espinosa, Dra. Violeta Ruiz, Carrera, MCA. Rosa Martha Padrón López y Dra. Ena Edith Mata Zayas.

**ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.



Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 11 de marzo del 2026

Por medio de la presente manifiesto haber colaborado como AUTORA en la producción, creación y/o realización de la obra denominada "**ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA Y REMOCIÓN DE DICLOFENACO EN SISTEMAS *IN VITRO* DE RAÍCES AISLADAS Y PLANTAS COMPLETAS DE *Typha domingensis Pers***". Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES



María del Carmen Alvarado Coronel



Dra. Violeta Ruiz Carrera

TESTIGOS



MCA. Rosa Martha Padrón López



Dra. Ena Edith Mata Zayas



UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2026
año de
Margarita
Maza

División Académica de Ciencias Biológicas DIRECCIÓN

Villahermosa, Tab. 06 de marzo de 2026

C. MARÍA DEL CARMEN ALVARADO CORONEL
Pas. de la Lic. en Biología
Presente

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (Tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la revisión en la plataforma iThenticate de su trabajo recepcional **ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA Y REMOCIÓN DE DICLOFENACO EN SISTEMAS IN VITRO DE RAÍCES AISLADAS Y PLANTAS COMPLETAS DE *Typha domingensis* Pers.**

Se incluyó citas, se excluyó bibliografía y se estableció el umbral de exclusión de coincidencias pequeñas a 16 palabras.

RESULTADO DE SIMILITUD	1 %
	97 páginas y 21819 palabras

Finalmente, se le solicita a la **C. MARÍA DEL CARMEN ALVARADO CORONEL**, integrar en la versión final del trabajo recepcional, este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



C.c.p. Dra. Violeta Ruíz Carrera. Directora de trabajo recepcional
C.c.p. Archivo

KM 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA
VILLAHERMOSA, CENTRO, TABASCO, MEX.

Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

María del Carmen Alvarado Coronel

ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA Y REMOCIÓN DE DICLOFENACO EN SISTEMAS IN VITRO DE RAÍCES AISLADAS Y PLANTAS C...

 Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:564441664

Fecha de entrega

6 mar 2026, 9:54 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

6 mar 2026, 10:30 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

María del C. Alvarado Coronel_TR tesis.pdf

Tamaño del archivo

1.7 MB

97 páginas

21.819 palabras

117.126 caracteres

1% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...




Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Coincidencias menores (menos de 16 palabras)
- ▶ Abstract
- ▶ Trabajos entregados

Exclusiones

- ▶ N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 1%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad




N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

- 1%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	dspace.ueb.edu.ec	<1%
2	Internet	docplayer.es	<1%
3	Internet	es.wikipedia.org	<1%
4	Internet	www.cio.mx	<1%
5	Internet	go.drugbank.com	<1%

DEDICATORIA

A mis padres, Antonio Alvarado Pérez y Matilde Coronel Rivera, por amarme tal y como soy, por ser mi soporte en todo momento, acompañarme en la toma de decisiones y respetarlas, por confiar plenamente en mí y permitirme volar a otros cielos, haciéndome sentir que siempre tendré un lugar cálido al cuál volver.

A mi abuelita Nina y a mi abuelito Chon (D.E.P.) porque me son mi ejemplo de resiliencia y constancia.

A mis hermanitas Kenia Alejandra y Kamila Sofía, me hicieron la hermana mayor más feliz el día que nacieron. Ustedes son el motor que me impulsa a ser mejor persona y mejor profesionalista.

A mi mejor amigo Miguel Cruz Cordova, porque su amistad invaluable es un pilar fundamental en mi vida, su manera única de ver el mundo y su enfoque realista ha sido crucial en mi propia evolución y autodescubrimiento (tqm+).

A mí misma, por superar mis límites y validar mis emociones sin perder de vista mis objetivos; está bien sentirse motivado, está bien sentirse perdido, todo es parte de un mismo proceso. Este logro es el testimonio de mi capacidad para enfrentar la adversidad, recordándome que la verdadera persistencia consiste en permitirse caer y poseer la voluntad inquebrantable de levantarse las veces que sean necesarias.

“Siempre es hoy, quiero hacer cosas imposibles” – Gustavo Cerati.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco y a la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol-UJAT) por brindarme el conocimiento y herramientas para formarme como una profesional competente al servicio de la sociedad.

De manera especial, a mi directora de tesis la Dra. Violeta Ruiz Carrera, por orientarme en todo mi recorrido, por nutrir mi curiosidad intelectual y motivar mi excelencia académica. A través de su ejemplo, aprendí que el rigor científico se ennoblecce cuando se ejerce con ética y sensibilidad humana. Su guía fue determinante no solo para esta tesis, sino fungió como pilar para el comienzo de mi camino como investigadora.

Al Dr. Jesús Bautista Regil, por su invaluable labor de asesoría y mentoría. Mi más profunda gratitud por compartir su conocimiento y por fomentar en mí una visión crítica y analítica.

A mi comité revisor, Dr. Alberto de Jesús Sánchez Martínez, Dra. Erika Escalante Espinosa, MCA. Rosa Martha Padrón López y Dra. Ena Edith Mata Zayas, por sus valiosas observaciones y sugerencias que contribuyeron a la calidad de este trabajo de investigación.

A la Dra. Susana de la Rosa García, por su generosa disposición al facilitar el laboratorio de microbiología para la realización de análisis complementarios en este estudio.

A mi compañero de laboratorio y amigo Kevin Dalí Cruz, por su apoyo en las colectas y en las evaluaciones experimentales, además, por animarme en los momentos oscuros que me acontecieron. Estar contigo en el laboratorio de biotecnología, fue de las mejores experiencias que siempre guardaré en mi corazón. Las risas nunca faltaron, ni los vasos con coca, ni el café con galletas y mucho menos las canciones de Soda Stereo y Bunbury.

A mi amiga y vecina del laboratorio de genómica Adriana Avalos, su genuina amistad llegó a mí en el momento más oportuno. Su calidez y empatía me enseñó que reconocer y honrar nuestras emociones es, en realidad, un acto de fortaleza que nutre nuestra resiliencia.

A mi amigo Luis David D. Artola, por su invaluable lealtad y por creer en que lo lograría, incluso en aquellos momentos de incertidumbre personal. Sus palabras de aliento y los momentos de convivencia compartidos, fueron imprescindibles para restaurar mi serenidad, brindándome la claridad indispensable para retomar el impulso y volver a tomar vuelo.

De manera extensiva, a todas aquellas personas que se cruzaron en mi camino durante mi formación y durante el desarrollo de esta tesis. Cada interacción y aprendizaje contribuyó a alcanzar este logro profesional, que comenzó como una aspiración académica y hoy se consolida como una realidad.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1 Crisis ecológica de ecosistemas acuáticos por PhAC.....	3
2.2 Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas del Diclofenaco.....	5
2.3 <i>Typha</i> spp. y estudios ecotoxicológicos	9
2.4 Cultivo <i>in vitro</i> de <i>Typha</i> spp.....	11
2.5 Estrategias para la fitorremediación de fármacos	13
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	18
5. HIPÓTESIS	18
6. OBJETIVOS	19
6.1 Objetivo general.....	19
6.2 Objetivos específicos	19
7. MÉTODO.....	20
7.1 Recolección y manejo de material vegetal.....	20
7.2 Establecimiento de cultivos asépticos.....	21
7.2.1 Cultivos de raíces de campo.....	21
7.2.2 Germinación aséptica y aclimatación de plántulas	22
7.2.3 Cultivo de raíces aisladas de plántulas.....	23
7.3 Medios de cultivo	23
7.4 Preparación de soluciones y dosis de Diclofenaco	24
7.5 Experimento de rizogénesis <i>in vitro</i>	24

7.5.1 Cultivo de raíces de campo	24
7.5.2 Inducción rizogénica de raíces de campo	25
7.5.3 Inducción rizogénica en raíces juveniles in vitro	25
7.6 Experimentos de toxicidad y remoción del Diclofenaco en plántulas y plantas desarrolladas <i>in vitro</i>	26
7.6.1 Toxicidad aguda y remoción a punto final.....	28
7.6.2 Toxicidad aguda y cinética de remoción	29
7.7 Análisis estadístico.....	30
8. RESULTADOS	31
8.1 Establecimiento de plantas y raíces asiladas.....	31
8.1.1 Calidad germinativa en sistemas de cultivo in vitro a partir de semillas. 31	
8.1.2 Viabilidad/asepsia y rizogénesis autótrofa de raíces adultas.....	32
8.1.3 Viabilidad/asepsia y rizogénesis heterótrofa de raíces adultas.....	33
8.1.4 Rizogénesis heterótrofa de sistemas radiculares juveniles.....	38
8.2 Toxicidad del Diclofenaco	42
8.2.1 Sintomatología tóxica – Evaluación I	42
8.2.1.1 Variación de los parámetros fisiológicos.....	43
8.2.1.2 Curvas de concentración-inhibición y IC ₅₀ de Diclofenaco	44
8.2.2 Sintomatología tóxica – Evaluación II	46
8.2.2.1 Variación del crecimiento de la biomasa	48
8.2.2.2 Curvas concentración-Inhibición y CI ₅₀ de Diclofenaco	49
8.2.3 Sintomatología tóxica de plantas desarrolladas en oscuridad	52
8.2.3.1 Modelos de regresión unidos de la toxicidad de hojas y raíces en oscuridad.....	54
8.3 Eficiencia de la remoción del Diclofenaco en los sistemas <i>in vitro</i>	55

8.3.1 Curva de calibración	55
8.3.2 Eficiencia de la remoción de Diclofenaco en tiempo final	55
8.3.3 Eficiencia de la remoción del Diclofenaco en diferentes tiempos	56
8.3.4 Eficiencia de la remoción en plantas desarrolladas en oscuridad	59
9. DISCUSIÓN	60
10. CONCLUSIÓN	67
11. RECOMENDACIONES	68
12. LITERATURA CITADA	69
13. ANEXOS	86

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del Diclofenaco	6
Tabla 2. Concentraciones de Diclofenaco en el medio acuático y plantas de campo	8
Tabla 3. Investigaciones sobre fitorremediación de fármacos	14
Tabla 4. Tratamientos para la inducción rizogénica de raíces de campo	25
Tabla 5. Tratamientos para la inducción rizogénica de raíces provenientes de plántulas <i>in vitro</i>	26
Tabla 6. Escala de severidad para evaluar toxicidad de hojas	28
Tabla 7. Germinación y crecimiento radicular de plántulas S1	31
Tabla 8. Modelos de regresión respuesta concentración-tiempo	44
Tabla 9. Parámetros del modelo de regresión inhibición-tiempo	45
Tabla 10. Resumen de las concentraciones inhibitorias medias (IC ₅₀) de color foliar y longitud radicular de plántulas de <i>Typha domingensis</i>	46
Tabla 11. Concentración inhibitoria media (IC ₅₀) estimada para la biomasa de plántulas de <i>Typha domingensis</i>	51
Tabla 12. Coeficientes R de los indicadores de color y turgencia de hojas y raíces de plantas de <i>Typha domingensis</i> desarrolladas en oscuridad	54
Tabla 13. Modelo de regresión concentración-dependiente de la remoción de Diclofenaco de plantas de <i>Typha domingensis</i> desarrolladas en oscuridad	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vías de incorporación de fármacos al ambiente	4
Figura 2. Recolección del material vegetal de <i>Typha domingensis</i>	20
Figura 3. Calidad y sanidad visual de la planta de campo y regenerantes <i>in vitro</i> de <i>Typha domingensis</i>	32
Figura 4. Porcentaje del color de las raíces aisladas de <i>Typha domingensis</i> autótrofas cultivadas en 0.5MS(-NH ₄)	33
Figura 5. Contaminación visual en el cultivo heterótrofo de raíces aisladas de <i>Typha domingensis</i>	34
Figura 6. Viabilidad/asepsia de raíces aisladas de <i>Typha domingensis</i> durante la etapa experimental.....	35
Figura 7. Elongación de raíces aisladas de <i>Typha domingensis</i>	35
Figura 8. Pelos radiculares en raíces aisladas de <i>Typha domingensis</i>	36
Figura 9. Raíces elongadas y extensión de pelos radiculares en los explantes de <i>Typha domingensis</i> por tratamiento	36
Figura 10. Cambio en el color de las raíces de <i>Typha domingensis</i> en los tratamientos.....	38
Figura 11. Viabilidad de plántulas de <i>Typha domingensis</i> en cultivos autótrofos y heterótrofos	39
Figura 12. Asepsia del sistema radicular aislado de <i>Typha domingensis</i>	40
Figura 13. Plantas de <i>Typha domingensis</i> con organogénesis radicular y foliar	41
Figura 14. Síntomas de toxicidad del Diclofenaco en las plantas regeneradas de <i>Typha domingensis</i>	42

Figura 15. Curvas de inhibición de color foliar y longitud radicular en plántulas de <i>Typha domingensis</i> durante la exposición a Diclofenaco.....	45
Figura 16. Severidad tóxica del Diclofenaco por el color foliar en las plántulas de <i>Typha domingensis</i> a los 15 días del experimento.....	47
Figura 17. Crecimiento en biomasa de plántulas de <i>Typha domingensis</i> por el efecto del Diclofenaco.....	49
Figura 18. Inhibición del peso de la biomasa en plántulas de <i>Typha domingensis</i>	50
Figura 19. Manifestaciones de toxicidad del Diclofenaco en plantas desarrolladas de <i>Typha domingensis</i> a partir de raíces inducidas en 0.5MS	53
Figura 20. Remoción final de Diclofenaco agrupado por concentración en plántulas de <i>Typha domingensis</i>	56
Figura 21. Remoción cinética de Diclofenaco	57
Figura 22. Velocidad de remoción del Diclofenaco	58

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

RESUMEN

La toxicidad y eficiencia de remoción de Diclofenaco (DCF) se evaluaron en cultivos *in vitro* de *Typha domingensis*. Para los experimentos se suministraron plántulas resultantes del proceso de germinación en medio de cultivo 0.1MS. Asimismo, se cultivaron raíces de campo de forma autotrófa y heterótrofa en 0.5MS con y sin amonio y 0.1mg/L de ANA y CIN que resultaron recalcitrantes a la asepsia y rizogénesis. El cultivo heterótrofo de raíces juveniles en 0.1MS y 0.5MS, con y sin ANA y CIN, suministró plantas completas en 0.5MS.

En cultivo de plántulas/luz se ensayaron 0, 1, 3, 5, 7 y 10 mg/L de DCF y en planta/osc, 7mg/L. Según el experimento, se evaluaron toxicidad aguda, remoción porcentual final, y cinética porcentual con velocidad de descenso de la remoción de DCF. Las plántulas/luz mostraron toxicidad al presentar clorosis y fragilidad de los tejidos a 10 mg/l, y en las plantas/osc la toxicidad por necrosis parcial de las raíces y la reducción del follaje se intensificó en presencia de la condición previa AIA/CIN.

Los modelos logit para la clorosis dieron CI_{50} confiables de 0.6-4.12, indicativos de sensibilidad temprana a DCF. Como la biomasa mostró secuencialmente inhibición temprana, estimulación del crecimiento en 3, 5 y 7 mg/L e inhibición tardía, se usaron modelos de regresión segmentada que indicaron CI_{50} de 7.6-9.6.

La remoción porcentual de DCF resultó exponencial. La remoción cinética sobrepasó el 70 % a 10 mg/L entre 5 y 10 días y esta fue inversamente proporcional a la velocidad. Las plantas/osc removieron 27 %.

Las evidencias destacan a una hidrófita con resistencia tóxica al DCF y eficiencia de remoción continua, según su estado vital.

Palabras clave

Fitorremediación, Toxicología, *Typha*, Contaminación Acuática, Fármacos

ABSTRACT

The toxicity and removal efficiency of Diclofenac (DCF) were evaluated *in vitro* cultures of *Typha domingensis*. For the experiments, seedlings resulting from the germination process in 0.1MS culture medium were supplied. Likewise, field roots were cultivated autotrophically and heterotrophically in 0.5MS with and without ammonium and 0.1mg/L of ANA and CIN, which proved recalcitrant to asepsis and rhizogenesis. Heterotrophic culture of seedling roots in 0.1MS and 0.5MS, with and without ANA and CIN, yielded complete plants in 0.5MS.

In seedling/light culture, 0, 1, 3, 5, 7, and 10 mg/L of DCF were tested, and in plant/dark culture, 7 mg/L was tested. According to the experiment, acute toxicity, final percentage removal, and percentage kinetics with removal drop velocity of DCF were evaluated. The seedlings/light showed toxicity by presenting chlorosis and tissue fragility at 10 mg/L, and in the plants/dark, toxicity due to partial root necrosis and foliage reduction intensified in the presence of the prior AIA/CIN condition.

Logit models for chlorosis gave reliable EC_{50} values of 0.6-4.12, indicative of early sensitivity to DCF. As biomass showed sequential early inhibition, growth stimulation at 3, 5, and 7 mg/L DCF, and late inhibition, segmented regression models were used, indicating EC_{50} values of 7.6-9.6. The percentage removal of DCF was exponential. Kinetic removal exceeded 70 % at 10 mg/L between 5-10 days and was inversely proportional to velocity. Plants/dark removed 27 %.

The evidence highlights a hydrophytic plant with toxic resistance to DCF and continuous removal efficiency, depending on its vital state.

Keywords

Phytoremediation, Toxicology, *Typha*, Aquatic Pollution, Drugs

1. INTRODUCCIÓN

El vertido indiscriminado de productos o compuestos farmacéuticos activos (PhAC, por sus siglas en inglés), en especial de antiinflamatorios no esteroideos (AINE), tiene efectos nocivos en los ecosistemas acuáticos y supone un peligro potencial para la salud humana. Es probable que la actual crisis del agua en América Latina se vea agravada por la aparición generalizada de esta contaminación emergente. (Salgado-Costa *et al.*, 2023).

Los AINE son un grupo muy diverso de productos farmacéuticos ampliamente utilizados en todo el mundo para tratar enfermedades inflamatorias agudas y crónicas. También se usan como antipiréticos y, a veces, para tratar enfermedades reumáticas (Fernandes *et al.*, 2021). Entre los AINE más consumidos se encuentra el Diclofenaco (DCF) (Vannini *et al.*, 2018). Diversas publicaciones ponen de manifiesto los efectos que este fármaco tiene en los organismos acuáticos, lo que implica riesgos adicionales para la salud humana, los ecosistemas y la biodiversidad. A pesar del peligro ecotoxicológico que presentan el Diclofenaco y los fármacos en general, los principales sistemas de depuración de aguas residuales no están diseñados para eliminarlos (Polińska *et al.*, 2021). En la actualidad, diversas técnicas de biorremediación de contaminantes del agua, entre ellas la fitorremediación, resultan más eficaces que las técnicas convencionales de eliminación de fármacos, con una eficacia cercana al 100 % (Mariza-Duré *et al.*, 2022; Machado *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2015).

La macrófita emergente *Typha domingensis*, suele crecer en zonas pantanosas y sistemas de drenaje de cuerpos de agua urbanos, donde se ve expuesta a contaminantes de forma inadvertida (Sesin *et al.*, 2021). Por su relevancia depurativa en el ecosistema, facilidad de cultivo, criterios de valoración toxicológica adecuados y mediciones asequibles se convierte en un modelo experimental para estudios de toxicidad de PhAC y fitorremediación (Sesin *et al.*, 2021).

En este contexto, el cultivo *in vitro* de células y órganos vegetales es una técnica biotecnológica muy útil para evaluar la capacidad de las células, los tejidos y los órganos de las plantas en cuanto a la tolerancia, la asimilación, la desintoxicación, el metabolismo y el almacenamiento. Además, se trata de una técnica altamente efectiva y económica, ya que las condiciones requeridas para su estandarización son sencillas, lo que contribuye a mejorar la reproducibilidad de los resultados (Doran 2009; Polińska *et al.*, 2021). Por lo tanto, en este trabajo se aprovechó el cultivo *in vitro* de raíces aisladas (Santos-Díaz *et al.*, 2007) y plántulas (Rice *et al.*, 2017) para predecir su toxicidad y la eficiencia de eliminación de DCF. En el futuro, la valoración toxicológica y la capacidad de remoción de DCF directamente de la raíz de esta macrófita emergente deberán conducir a la fitorremediación de los ecosistemas acuáticos tropicales.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Crisis ecológica de ecosistemas acuáticos por PhAC

Los PhAC se han clasificado dentro de los contaminantes de preocupación emergente a causa de su extenso consumo global y amplia presencia en los ecosistemas acuáticos (Salgado-Costa *et al.*, 2023). Debido a su elevada persistencia y bioacumulación en el ambiente causan daños en la biota (Salgado-Costa *et al.*, 2023), lo que conlleva un riesgo ecológico. Muchos fármacos son productos contaminantes que continúan siendo introducidos al medio acuático sin que su toxicidad sea prevista (Arman *et al.*, 2021). Ortúzar *et al.* (2022) señalan que aproximadamente 3000 compuestos son utilizados como productos farmacéuticos y la cantidad de producción anual supera los cientos de toneladas. Con la reciente pandemia por COVID-19, esta producción se vio en aumento y contribuyó de manera significativa a la incorporación de fármacos en los recursos hídricos (Flynn *et al.*, 2021; Gwenzi *et al.*, 2022; Merma-Chacca *et al.*, 2022; Morales-Paredes *et al.*, 2022; Nippes *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2024).

En primera instancia, los PhAC están elaborados para ser químicamente estables, pero en el medio ambiente experimentan transformaciones biológicas y fisicoquímicas, lo que complica su eliminación (Castro-Pastrana *et al.*, 2021). Después de la ingestión de los fármacos, los metabolitos biotransformados se excretan en la orina y las heces como sustancias activas (Ortúzar *et al.*, 2022) mezclándose con las aguas residuales urbanas hasta las plantas de tratamiento de aguas residuales o son liberados directamente en las fosas sépticas de los hogares rurales (Moreno-Ortiz *et al.*, 2013). Los PhAC también pueden incorporarse a través de lixiviados de vertederos, aguas residuales de hospitales, estiércol de animales tratados con medicamentos veterinarios y residuos de procesos industriales. Estos fármacos y sus productos de degradación se han detectado tanto en aguas residuales, en cuerpos de agua dulce superficiales, ambientes marinos, lodos, agua

potable, aguas subterráneas e incluso en algunos alimentos (Arman *et al.*, 2021; Carvalho *et al.*, 2014; Li y Randak, 2009; Moreno-Ortiz *et al.*, 2013).

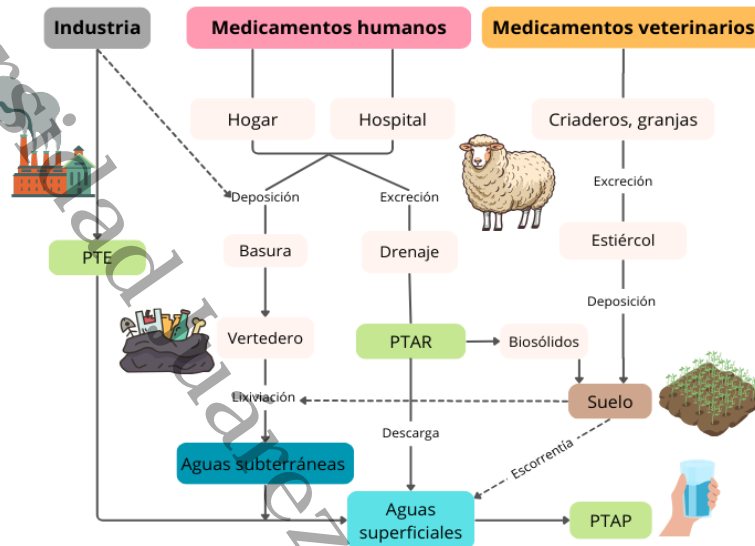


Figura 1. Vías de incorporación de fármacos al ambiente. PTE: planta de tratamiento de efluentes industriales; PTAR: planta de tratamiento de aguas residuales; PTAP: planta de tratamiento de agua potable.

Fuente: adaptado de Kurade *et al.* (2021) y Pasta *et al.* (2022).

Los PhAC se encuentran en el medio acuático en concentraciones que van desde los picogramos, nanogramos, microgramos e incluso miligramos (García-Alcalde *et al.*, 2023), por lo que los métodos convencionales de tratamiento de aguas residuales no son eficaces para eliminarlos. Sin embargo, se están desarrollando algunos métodos fisicoquímicos para la eliminación de fármacos, como los procesos de oxidación avanzada, cloración, Fenton, ozono y luz UV. No obstante, sus principales desventajas son su elevado coste, el mayor consumo de energía y la generación de nuevos residuos contaminantes en sus procesos (Polińska *et al.*, 2021).

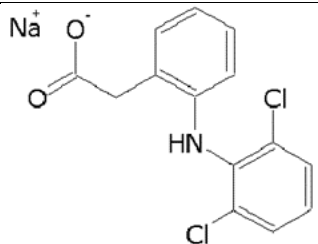
2.2 Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas del Diclofenaco

En Latinoamérica, los AINE ocupan un lugar preponderante. Estos representan un grupo muy diverso de productos farmacéuticos que se utilizan ampliamente en todo el mundo para tratar muchas enfermedades inflamatorias, tanto agudas como crónicas. También se usan como antipiréticos y, en ocasiones, para tratar enfermedades reumáticas (Fernandes *et al.*, 2021). Los AINE (ácidos débiles) inhiben a las enzimas ciclooxigenasas (COX), lo que impide la producción de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina). Estos, a su vez, actúan como mediadores de la inflamación tanto a nivel periférico como central. Como indica Setién-Prieto (2007), se han descrito dos isoformas de la enzima COX: COX-1 y COX-2.

El DCF es un derivado fenilacético reconocido como uno de los analgésicos más populares del mundo (Vannini *et al.*, 2018). Estructuralmente el DCF se compone de una amina secundaria, un aminoácido, un dicloro benceno, una amina aromática y un ácido monocarboxílico, su nombre IUPAC es ácido 2-(2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil)acético (CNIB, 2024). Según el banco de medicamentos en línea (13 de junio de 2005) este se registra con los nombres comerciales de Aleve dolor de artritis, Arthrotec, Cambia, Cataflam, Flector, Licart, Lofena, Pennsaid, Previdolrx Analgesic Pak, Salonpas Pain Relieving Patch, Solaraze, Voltaren, Voltaren Emulgel, Xrylix, Zipsor, entre otros. Las propiedades químicas y metabolitos derivados del DCF se visualizan en la tabla 1.

A pesar de la evidente peligrosidad del DCF tanto para la salud humana como para los ecosistemas acuáticos, anualmente se consumen unas 2400 toneladas a nivel mundial (Sathishkumar *et al.*, 2021). Durante la pandemia por COVID-19 fue uno de los AINE más usado (García-Zamora *et al.*, 2025; Wojcieszynska *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2024). Por su detección en aguas superficiales la Unión Europea vigila el seguimiento de su toxicidad (Sathishkumar *et al.*, 2020) y se incluyó en la Primera Lista de Observación establecida en la Directiva Marco Europea del Agua (Decisión UE 2015/495 y Decisión UE 2018/840) (González *et al.*, 2023).

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas del Diclofenaco.

Propiedades		Referencias
Estructura		(Olivera <i>et al.</i> , 2003)
Fórmula química	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	(Lonappan <i>et al.</i> , 2016)
Peso molecular	296.16 g/mol	(Lonappan <i>et al.</i> , 2016)
N° CAS	15307865, 15307796	(Lonappan <i>et al.</i> , 2016)
Solubilidad en agua	2.37 mg/L (25 °C)	(Mirzaee <i>et al.</i> , 2021)
Pka	4.15	(Lonappan <i>et al.</i> , 2016)
Log K _{ow}	4.51	(Lonappan <i>et al.</i> , 2016)
Principales metabolitos de degradación	5, 4' -dihydroxydiclofenac, 3-dihydroxydiclofenac, 4'-dihydroxymethyldiclofenac, 3' -hydroxymethyl-diclofenac, 4' -hydroxydiclofenac and 5' -Hydroxydiclofenac	(Mirzaee <i>et al.</i> , 2021)

Fuente: elaboración propia.

Actualmente no existe algún valor estándar de calidad ambiental para el DCF en el agua y según la Directiva del Marco Europeo dicho valor no se ha calculado siguiendo la Guía Técnica sino que optan por datos poco confiables e irrelevantes

(Maack *et al.*, 2022). La tabla 2, muestra las concentraciones de DCF y los derivados registrados en diferentes medios acuáticos y en estructuras vegetativas.

La preocupación ecológica por el DCF surgió a principios de la década de los 2000, cuando se informó la rápida disminución de la población de buitres Gyps (de 97 % a 99,9 %, entre 1992 y 2007) en Asia meridional y el Sudoeste asiático. El declive de la población Gyps estaba asociado al uso extendido de DCF como tratamiento en el ganado (Moreno-Ortiz *et al.*, 2013; Pierattini *et al.*, 2018; Sathishkumar *et al.*, 2021). En organismos acuáticos, se han evidenciado otros efectos negativos del DCF mediante diferentes pruebas de toxicidad. Ferrari *et al.* (2003) llevaron a cabo uno de los primeros bioensayos con fármacos incluido el DCF, usando bacterias, algas, rotíferos, microcrustáceos y peces, se demostraron los efectos adversos del DCF. Por otro lado, Lee *et al.* (2011) realizaron pruebas de exposición al DCF durante tres meses en crustáceos de agua dulce (*Daphnia magna* y *Moina macrocopa*) y un pez (*Oryzias latipes*), los cuales registraron una marcada disminución de la reproducción con 25 mg/L en *D. magna* y 50 mg/L en *M. macrocopa*. Los autores concluyeron que el DCF impactó el desarrollo de las especies. En particular los peces expuestos a una concentración de 0.001–10 mg/L de DCF durante tres meses mostraron una tendencia decreciente significativa en el éxito y retraso de la eclosión. Russo *et al.* (2023), evaluaron el impacto agudo y crónico y la ecogenotoxicidad del DCF en algas, rotíferos y crustáceos de agua dulce y encontraron que la exposición al DCF induce toxicidad aguda o crónica y daño al ADN, afectando la supervivencia, el crecimiento, el desarrollo embrionario y activación del sistema de defensa a través de actividades de enzimas antioxidantes. Otros mecanismos de acción del DCF que pueden presentarse son la inhibición de los neutrófilos, la inhibición del movimiento de los leucocitos, la inhibición de factores de transcripción de genes mediadores inflamatorios o la eliminación de radicales de oxígeno liberados por neutrófilos y macrófagos (Contreras-Carvajal, 2015).

Tabla 2. Concentraciones de Diclofenaco en el medio acuático y plantas de campo.

Concentración de DCF	Medio	Ubicación	Fuente
1 µg/L	Agua	No especifica	(Svanfelt <i>et al.</i> , 2010)
1.2 ± 0.14 µg/L	Agua	Río Mbokodweni	(Amos-Sibeko
1.1 ± 0.19 µg/L		en Sudáfrica	<i>et al.</i> , 2019)
0.16 ± 0.03 µg/L	Sedimentos		
1.0 ± 0.40 µg/L			
1.7 ± 0.42 y 0.49 ± 0.02 µg/L	Raíces*		
1.1 ± 0.30 y 1.35 ± 0.302 µg/L			
1.1 ± 0.06 y 2.1 ± 0.04 µg/L	Tallo* Hojas*		
0.193 y 0.042 mg/L	Agua	Río Beberibe PE, Brasil	(Veras <i>et al.</i> , 2019)
0.20 ± 0.14 µg/L	Agua	Ríos del Oeste de Francia.	(Zind <i>et al.</i> , 2021)
395–2100 ng/L	Agua	Ríos pequeños y medianos en el Norte de Alemania	(Meyer <i>et al.</i> , 2016)
258–1398 ng/L	Agua	Aguas superficiales y residuales de Cuernavaca	(Rivera-Jaimes <i>et al.</i> , 2018)
9.32 y 48.05 mg/L	Agua	Cuenca del río Machángara en Ecuador	(Ibarra <i>et al.</i> , 2024)
1 ng/L agua subterránea 28–32 ng/L agua superficial (presas)	Agua	Ciudad de México	(Félix-Cañedo <i>et al.</i> , 2013)

0.08-0.3 µg/L 3'-hidroxiDiclofenaco, 0.03-0.4 µg/L ácido 8-clorocarbazol-1-il-etanoico.	Agua	Aguas superficiales y efluentes de Karachi (Pakistán)	(Scheurell et al., 2009)
0.4-1.8, 0.01-0.3 µg/L 4'- y 5-hidroxiDiclofenaco			
0.02-0.2 µg/L 1-(2,6-diclorofenil)-1,3-dihidro-2 H-indol-2-ona			

**Eichhornia crassipes*.

Fuente: elaboración propia.

En cuanto a pruebas toxicológicas de organismos fotosintéticos, Cho y Kim (2021) expusieron plántulas jóvenes de *Arabidopsis thaliana* en diferentes concentraciones de DCF y mostraron que este fármaco induce estrés oxidativo, inhibe el crecimiento, altera la arquitectura del sistema radicular y altera la actividad de la auxina en raíces. Kummerová *et al.*, (2016) reporta que el DCF disminuye el contenido de pigmentos fotosintéticos y altera la síntesis de la clorofila en *Lemna minor* causando estrés oxidativo, con aumentos de las especies reactivas de nitrógeno y oxígeno en las raíces.

2.3 *Typha* spp. y estudios ecotoxicológicos

El género *Typha* se conoce comúnmente como “espadaña”, “junco” o “enea” entre otros nombres (Makwana *et al.*, 2021), comprende alrededor de unas 49 especies con una distribución cosmopolita, son macrófitas monocotiledóneas emergentes y enraizadas (Sesin *et al.*, 2021). *Typha sp.* puede distribuirse en climas tropicales a templados, y climas húmedos a secos, donde crece en cualquier lugar en donde el suelo esté húmedo o saturado y tolera cierto grado de salinidad y un amplio rango

de pH, incluidos suelos ácidos (Akhtar *et al.*, 2017; Baldwin y Cannon, 2007), además que su crecimiento está adaptado a suelos de humedales donde el NH_4 es el ion dominante (Brix *et al.*, 2002). En el continente americano se distribuyen tres especies del género *Typha*: *T. latifolia*, *T. angustifolia* y *T. domingensis*, las dos primeras se encuentran en regiones frías, templadas y subtropicales, mientras que *T. domingensis* se distribuye en la región tropical (Plasencia, 2017).

En el estado de Tabasco *T. domingensis* forma parte de la vegetación acuática común en los humedales (Chan-Quijano y Rivera-Guzmán, 2017), de acuerdo con su descripción botánica es una herbácea perenne que puede crecer hasta 2.5 m de altura, son robustas y rizomatosas, generalmente en poblaciones grandes y densas. Tienen un tallo de tipo aéreo simple y cilíndrico, poseen hojas simples las cuales igualan o exceden la altura de sus espigas, más o menos dísticas que llegan a medir hasta 2.5 m de longitud, son lineares, planas y sin peciolo. Florece en primavera y fructifica hasta mediados de otoño, la inflorescencia es de color café claro, con una o más brácteas foliáceas caducas, en una misma espiga se presenta la porción apical masculina de 7–22 cm y la porción basal femenina de 10-46 cm, generalmente ambas porciones están separadas por una corta sección de raquis desnudo. El fruto es fusiforme de 1 a 1.5 mm de largo, dehiscente y de tipo aquenio, con un ginóforo acrescente y estilo también acrescente, y partes del perianto persistentes, que ayudan a la dispersión por viento (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, 2009; Sistema Global de Información sobre Biodiversidad, s.f.)

Respecto a los estudios toxicológicos con *Typha* y fármacos, Dordio *et al.* (2009) realizaron una investigación con *Typha* spp. en un sistema hidropónico para evaluar su capacidad fitorremediadora para el ácido clofíbrico en una concentración de 20 $\mu\text{g/L}$ y obtuvieron una eliminación del 80 % del fármaco transcurridos los 21 días. En otro estudio Dordio *et al.* (2011) utilizaron a *Typha* spp. para tratar aguas contaminadas con ibuprofeno con una concentración de 20 $\mu\text{g/L}$ y llegaron a la conclusión que esta macrófita eliminó casi el 60 % del fármaco en las primeras 24

h y alcanzó más del 99 % de eliminación al final del ensayo (21 días). Sin embargo, también reportaron que las plantas tuvieron afectaciones en el crecimiento y en los pigmentos fotosintéticos, además de alteraciones en las actividades de las enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa y guayacol peroxidasa) y daños en hojas y raíces. Por otro lado, Machado *et al.* (2020) evaluaron el potencial de *Iris pseudacorus* y *T. domingensis* para remover furosemida de una solución nutritiva, donde ambas plantas fueron expuestas a 2 mg/L del compuesto durante 21 días en un sistema hidropónico. El porcentaje de remoción de furosemida fue de 42.0–66.9 % para *I. pseudacorus* y 40.5–57.8 % para *T. domingensis*, aunque ambas plantas no sufrieron afectaciones en el estudio se pudo demostrar que tuvieron diferentes comportamientos en la eliminación del fármaco, mientras que *I. pseudacorus* sigue un comportamiento de eliminación de pseudo primer orden, *T. domingensis* se dividió en varias fases. Zapata-Morales *et al.* (2020) utilizaron a *T. latifolia* para eliminar DCF y naproxeno en un humedal construido de flujo subsuperficial. Las plantas se expusieron a una concentración de 1, 3, 5, 7 y 10 mg/L de DCF y 5, 8, 10, 12 y 15 mg/L de naproxeno, donde se removió un 98.4 % y 97.7 %, respectivamente. Además, en este estudio se caracterizaron comunidades bacterianas asociadas a las raíces de las plantas que sugieren que contribuyen al crecimiento vegetal con eliminación de los dos fármacos en cuestión.

2.4 Cultivo *in vitro* de *Typha* spp.

El cultivo *in vitro* es una técnica empleada para el cultivo de plantas en entornos controlados conlleva la presencia de factores de estrés específicos (químicos, físicos y biológicos) como lesiones sufridas durante el aislamiento de los explantes (pieza vegetal cultivada), niveles elevados de humedad y gases, exceso de nutrientes, sacarosa y reguladores del crecimiento en el medio, etc. (Pasternak y Steinmacher, 2024). Adicionalmente, de las condiciones mencionadas, es posible que las plantas se desarrollen de forma completa e incompleta. El desarrollo

incompleto da lugar a la formación de brotes desprovistos de raíces o de raíces carentes de brotes, es decir cultivo de raíces aisladas. Para inducir el desarrollo vegetal sea cual sea el objetivo de los experimentos se utilizan los reguladores de crecimiento, los cuales son moléculas orgánicas sintetizadas químicamente u obtenidos de otros organismos que regulan diferentes procesos bioquímicos en las plantas (Alcantara-Cortes *et al.*, 2019). Dentro de los reguladores de crecimiento usados en el cultivo *in vitro* se encuentran las auxinas y las citoquininas. Las auxinas son una familia de sustancias químicas que regulan principalmente el crecimiento, la división celular, diferenciación de floema y xilema, participación en respuestas trópicas, formación de raíces adventicias, dominancia apical y regulación de la formación floral. Las auxinas más utilizadas son el AIA (ácido indol-3-acético), el ANA (ácido α -naftalenacético), el 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), el AIB (ácido indolbutírico), el pCPA (ácido p-clorofenoxiacético) y el BTOA (ácido benzotiazol-2oxiacético) (Perea-Dallos *et al.*, 2010). Las auxinas deben usarse en concentraciones muy bajas para evitar la inhibición y atrofia celular. Las citoquininas son derivados de la adenina que promueven la división celular en tejidos no meristemáticos. Entre ellas están: BA (bencil adenina), K (cinetina o 6-furfuril aminopurina), Zea (zeatina) y 2-iP (N-isopentenil adenina). Las dos primeras son sintéticas y las dos últimas naturales. Las citoquininas aumentan la tasa de división celular, desarrollo de yemas laterales y retardo de la senescencia de tejidos (Perea-Dallos *et al.*, 2010). De manera desventajosa, el uso de fitorreguladores también puede afectar la fisiología y la morfología de las plántulas, raíces, brotes y hojas si no se usan en dosis adecuadas (Hernández-Piedra *et al.*, 2025), como es el caso de las auxinas que puede provocar trastornos como la hiperhidricidad (Pasternak y Steinmacher, 2024).

En los ensayos toxicológicos, el cultivo *in vitro* de células y órganos vegetales es una herramienta biotecnológica valiosa con diversas valoraciones destinadas a identificar la capacidad de las células, tejidos y órganos vegetales para tolerar, asimilar, detoxificar, metabolizar y almacenar una amplia variedad de

contaminantes orgánicos (Doran, 2009). Estas técnicas resultan ser muy útiles y de bajo costo por la sencillez de las condiciones para la estandarización que ayuda a mejorar la reproducibilidad de los resultados (Doran, 2009; Polińska *et al.*, 2021).

A pesar de los beneficios del cultivo *in vitro* existen escasos estudios que aprovechen el potencial de *Typha* spp. para tratar cuerpos acuáticos contaminados. De las investigaciones pioneras destaca el realizado por Santos-Díaz *et al.* (2007) en donde cultivaron de manera *in vitro* raíces aisladas de *T. latifolia* y *Scirpus americanus* para remover Pb (II), Mn (II) y Cr (III) del medio de cultivo Murashige y Skoog adicionado con varios tipos de auxinas. Otros pocos estudios revelan el uso potencial de la agrotransformación con *Typha* spp., como es el caso de *T. latifolia* que se usó por primera vez de manera exitosa la transformación de callos con *Agrobacterium tumefaciens*, estableciendo así un modelo estandarizado (Nandakumar *et al.*, 2004, 2005). Por otra parte, en el 2020 Hernández-Piedra *et al.*, establecieron exitosamente un protocolo para la inducción con cepas de *A. rizhogenes* en raíces pilosas en embriones somáticos de rizoclonos de *T. domingensis*. De manera reciente el trabajo de Hernández-Piedra *et al.* (2025) ha reportado por primera vez la dinámica espacio-temporal de un sistema de raíces de *T. domingensis*, proponiendo esta especie como modelo para la rizofiltración y potencial uso para fitotratamiento de aguas eutrofizadas, para esto se realizaron experimentos con plántulas inducidas con AIA y una combinación con CIN o BAP en presencia de luz y oscuridad.

2.5 Estrategias para la fitorremediación de fármacos

La sobrepoblación y la inadecuada gestión de los recursos naturales han tenido un impacto perjudicial en el medio ambiente (Delgadillo-López *et al.*, 2011; Farraji *et al.*, 2020). El equilibrio de los ecosistemas y la salud humana se ven amenazados por el vertido constante de contaminantes. Varias tecnologías fisicoquímicas se han desarrollado para tratar los espacios contaminados, estos incluyen: la precipitación química, la filtración por membrana, la adsorción, la coagulación-floculación, la degradación fotocatalítica, el intercambio iónico, la oxidación con ozono, la

oxidación con peróxido de hidrógeno, la flotación y los métodos electroquímicos (Farraji *et al.*, 2020); sin embargo, la principal limitante de tecnologías es su elevado costo (Marrero-Coto *et al.*, 2012).

La fitorremediación de PhACs representa una alternativa rentable, solar y de bajo impacto ecológico que ha suscitado un gran interés debido a su eficacia en la eliminación de varios contaminantes mediante procesos bióticos con mínimos riesgos (Kurade *et al.*, 2021). El término fitorremediación es un conjunto de tecnologías que utilizan a las plantas para limpiar o rehabilitar lugares contaminados tanto el agua como el suelo y el aire (Núñez *et al.*, 2004). Las plantas junto con los microorganismos asociados a su rizosfera son capaces de absorber, secuestrar, degradar y metabolizar los contaminantes naturalmente (Marrero-Coto *et al.*, 2012; Zimicz, 2016). La fitorremediación puede clasificarse en mecanismos específicos, como la fitoestabilización, la fitoextracción, la fitovolatilización, la fitoevaporación, la fitodegradación, la fito-desalinización, la rizofiltración y la rizodegradación (Farraji *et al.*, 2020). Actualmente las investigaciones sobre fitorremediación de fármacos involucran técnicas como humedales construidos, mesocosmos e hidroponía; en menor medida se ha utilizado el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales y técnicas más sofisticadas como lo es la inducción de raíces peludas. En la tabla 3 se muestran algunas investigaciones realizadas para fitorremediar fármacos y las plantas empleadas.

Tabla 3. Investigaciones sobre fitorremediación de fármacos.

Planta	Compuesto farmacéutico	Técnica empleada	Fuente
<i>Cyperus alternifolius</i>	Carbamazepina, sulfametoxazol, ofloxacina y roxitromicina	Humedal construido	(Yan <i>et al.</i> , 2016)

<i>Lemna minor</i>	Cefadroxil, metronidazol, trimetroprima y sulfametoxazol	Humedal construido	(Iatrou <i>et al.</i> , 2017)
<i>Phragmites australis</i>	Cafeína, naproxeno, metoprolol, propranolol, ibuprofeno, carbamazepina y Diclofenaco	Mesocosmos Humedal construido	(He <i>et al.</i> , 2018)
<i>Iris pseudacorus</i>	Furosemida	Hidroponía	(Machado <i>et al.</i> , 2020)
<i>Typha domingensis</i>			
<i>Chrysopogon zizanioides</i>	Ciprofloxacino y tetraciclina	In situ	(Panja <i>et al.</i> , 2020)
<i>Zea mays Helianthus annuus</i>	Carbamazepina, 10,11- epoxicarbamazepina, ibuprofeno y acetaminofén	Hidroponía	(Ryšlavá <i>et al.</i> , 2015)
<i>Phragmites australis</i>	Acetaminofén	Humedal construido	(Vo <i>et al.</i> , 2019)
<i>Lemna sp. Spirogyra sp.</i>	Diclofenaco, acetaminofén, ibuprofeno, carbamazepina, ácido clofibrico, cafeína y propranolol	Biorreactores	(García- Rodríguez <i>et al.</i> , 2015)
<i>Phalaris arundinacea</i>	Sulfametoxazol y Diclofenaco	Humedal construido	(Sochacki <i>et al.</i> , 2018)

<i>Scirpus validus</i>	Carbamazepina, naproxeno, Diclofenaco, ácido clofibrico y cafeína	Mesocosmos Hidroponía	(Zhang <i>et al.</i> , 2013)
<i>Alternanthera spp.</i>	Acetaminofén y metilparabeno	Humedal construido	(Mutar <i>et al.</i> , 2021)
<i>Salvinia molesta</i>	Eritromicina	Hidroponía	(Rocha <i>et al.</i> , 2021)
<i>Lemna minor</i>			
<i>Myriophyllum aquaticum</i>			
<i>Rotala rotundifolia</i>			
<i>Canna indica</i> y <i>Acorus calamus</i>	Sulfonamidas	Hidroponía	(Ruan <i>et al.</i> , 2022)
<i>Brassica juncea</i>	Ácido acetilsalicílico y tetraciclina	hidroponía	(Gahlawat & Gaub, 2016)
<i>Populus nigra</i>	Ibuprofeno	Cultivo <i>in vitro</i>	(Iori <i>et al.</i> , 2012)
<i>Helianthus annuus</i>	Tetraciclina y oxitetraciclina	Cultivo <i>in vitro</i> Raíces pilosas	(Gujarathi <i>et al.</i> , 2005)
<i>Phragmites australis</i>	Praziquantel	Cultivo <i>in vitro</i> Cultivo en suspensión Humedal construido	(Marsik <i>et al.</i> , 2017)
<i>Chrysopogon zizanioides</i>	Tetraciclina	hidroponía	(Sengupta <i>et al.</i> , 2016)
<i>Phragmites australis</i>	Ibuprofeno, naproxeno y Diclofenaco	Humedal construido	(Ávila <i>et al.</i> , 2020)

Fuente: elaboración propia.

3. JUSTIFICACIÓN

Las pruebas de fitotoxicidad y fitorremediación en sistemas de cultivo *in vitro* representan una herramienta innovadora en ecotoxicología y biotecnología vegetal para abordar los problemas de contaminación acuática por productos farmacéuticos activos. Hasta el momento, la mayoría de las aplicaciones de fitorremediación se han centrado en humedales construidos, humedales flotantes, mesocosmos e hidroponía con diferentes especies vegetales (Machado *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2013), mientras que son escasos los estudios que emplean técnicas alternativas de cultivo *in vitro* con *Typha domingensis* para evaluar la actividad toxicológica y la remoción de contaminantes de origen farmacéutico, como el Diclofenaco (DCF). Si bien numerosas investigaciones sobre este fármaco se concentran en la toxicidad hacia las macrófitas flotantes y emergentes o en la eliminación bioquímica en humedales, se evidencia una menor producción de estudios con cultivos vegetales *in vitro* que sirvan como referencia directa en México (Zapata-Morales *et al.*, 2024).

La macrófita enraizada emergente *T. domingensis*, reconocida por su tolerancia a ambientes adversos, ha demostrado una amplia capacidad para remover contaminantes orgánicos e inorgánicos (Mojiri, 2012; Compaoré *g* 2020), en especial nutrientes como nitrógeno y fósforo. De manera más reciente, también se ha documentado su potencial para eliminar fármacos del agua (Dordio *et al.*, 2009; Machado *et al.*, 2020; Mariza-Duré *et al.*, 2022).

Por lo tanto, *T. domingensis* se perfila como un modelo experimental idóneo en ensayos de cultivo *in vitro*, al constituir una etapa preliminar, rápida y mecánica para evaluar la toxicidad y la capacidad de remoción de Diclofenaco en climas tropicales. La evidencia científica puede respaldar su eficacia y aplicabilidad en condiciones reales, con un enfoque orientado a la fitorremediación acuática.

4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿En qué medida se manifiesta la toxicidad del Diclofenaco en el follaje, las raíces y el desarrollo general de *Typha domingensis* en diferentes condiciones experimentales y sistemas *in vitro*, y cuáles son las implicaciones para el estudio de esta toxicidad?
- ¿Cuál es la eficiencia de *Typha domingensis* para remover o atenuar el Diclofenaco en raíces aisladas, plántulas y plantas desarrolladas cultivadas *in vitro*?
- ¿Permite la remoción del Diclofenaco la recuperación fisiológica de los tejidos vegetales expuestos?

5. HIPÓTESIS

El Diclofenaco desencadena inhibiciones fisiológicas tempranas y altamente sensibles en la planta acuática *Typha domingensis* bajo diferentes bioensayos de cultivo *in vitro*; sin embargo, estas respuestas no comprometen completamente la viabilidad del sistema vegetal, sino que coexisten con una capacidad funcional de tolerancia y atenuación del fármaco, lo que respalda el potencial de la especie para su remoción.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar la toxicidad y remoción del Diclofenaco en sistemas de cultivo *in vitro* de raíces aisladas inducidas y plantas completas de *Typha domingensis*.

6.2 Objetivos específicos

- Desarrollar y estandarizar sistemas de cultivo *in vitro* de plantas completas y raíces aisladas de *Typha domingensis* como modelos experimentales.
- Determinar la toxicidad del Diclofenaco en ambos sistemas biológicos mediante la estimación de parámetros de inhibición y puntos finales cuantificables.
- Evaluar y comparar la sensibilidad toxicológica de los sistemas *in vitro* mediante el análisis de la respuesta dosis–tiempo y la estimación de los parámetros de CI₅₀ frente al Diclofenaco.
- Caracterizar la capacidad de remoción del Diclofenaco y describir su comportamiento cinético.

7. MÉTODO

7.1 Recolección y manejo de material vegetal

La recolección de plantas e infrutescencias de *Typha domingensis* se llevó a cabo en una zona inundable de la ciudad de Villahermosa, Tabasco (17°59'13.64"N, 92°57'50.37"O) (figura 2A). El material vegetal se recolectó en tres salidas de campo en 2024. En abril y mayo se extrajeron tres plantas completas y en junio fueron las infrutescencias maduras (figura 2B). Las raíces de las plantas se extrajeron del suelo con ayuda de una pala y se colocaron en recipientes de plástico (figura 2C). Las inflorescencias se envolvieron en un paño para evitar dehiscencia de las semillas y se introdujeron en bolsas de papel.



Figura 2. Recolección del material vegetal de *Typha domingensis*. A) población ubicada en la zona inundable, B) infrutescencias, C) raíces con sedimento.

Las plantas de la primera y segunda recolección (P1 y P2, respectivamente), así como las infrutescencias, se transportaron a las instalaciones de la DACBioI-UJAT. Las raíces de las plantas se lavaron con abundante agua del grifo para eliminar el exceso de sedimentos y el follaje se redujo a 30 cm de distancia de la base caular. Posteriormente, los esquejes se aclimataron durante tres semanas, a temperatura ambiente y luz con fotoperiodo de 16 horas de luz fría (lámparas LED Philips, EE. UU.) usando tinajas de plástico con agua potable aireada a 1/4 de su volumen. Las lámparas proporcionaron luz de 72 μmoles de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las semillas maduras se desprendieron de las inflorescencias y se les eliminó el perianto, siguiendo el procedimiento descrito por Hernández-Piedra *et al.* (2018). Después, se guardaron en oscuridad en un desecador acondicionado con sílice gel.

7.2 Establecimiento de cultivos asépticos

7.2.1 Cultivos de raíces de campo

De las P1 y P2 aclimatadas, se seleccionaron al azar raíces blancas primarias y verdes ramificadas de la parte superior del rizoma. Estas se disectaron en segmentos de longitud variable (2-3 cm). El procedimiento aséptico de los segmentos radiculares requirió de doble lavado con agua purificada posteriormente dentro de la campana de flujo laminar, se desinfectaron en 10 % de NaClO (Cloralex®) con Tween-20 al 0.2 % durante 10 min realizando agitaciones manuales. Finalmente, se enjuagaron tres veces con agua esterilizada. Estos explantes asépticos (n= 3-4) se establecieron al azar en unidades de cultivo de vidrio (frasco Gerber®, 6.7 x 5.8 cm) en un medio nutritivo estéril.

7.2.2 Germinación aséptica y aclimatación de plántulas

Se suministraron dos cultivos de semillas (S1 y S2) en momentos diferentes para germinarlas. En ambos casos, las semillas se desinfectaron en solución de etanol al 30 % por 10 min, luego en solución de NaClO (Cloralex®) al 10 % por 10 min y se enjuagaron tres veces con agua estéril (Hernández-Piedra *et al.*, 2018). Las semillas S1 se colocaron directamente en tubos de vidrio (Pyrex®, 16 x 125 mm) con 5 ml de medio nutritivo 0.1MS. Después de la germinación, de tres a siete plántulas se transfirieron a tubos de vidrio (Pyrex®, 25 x 150 mm) con 5 ml del medio de cultivo estéril. Todo este proceso se realizó dentro de la campana de flujo laminar para mantener la asepsia. Los tubos con las plántulas agregadas se mantuvieron en aclimatación dentro de un cuarto de crecimiento ambientalmente controlado bajo luz blanca fría ($85 \mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y fotoperiodo de 16 horas luz.

En este primer establecimiento de semillas los parámetros de preevaluación fueron cualitativos. Se registró el porcentaje de viabilidad/asepsia y la eficiencia germinativa. La viabilidad se diagnosticó con la visualización de la plántula. La asepsia se calificó por la ausencia de turbidez microbiana en el medio nutritivo. Además, con ayuda de un vernier se midió sobre la superficie de la unidad de cultivo la elongación de la raíz primaria (cm) por plántula desde el punto de transición del hipocótilo hasta la punta de la raíz. La germinación y aclimatación de plántulas S1 se realizó en un periodo total de 2 meses.

Por otra parte, las semillas S2 fueron colocadas en cajas de Petri (Pyrex®, 10 cm) con 5 ml de agua estéril para su germinación y se aclimataron en un periodo de 15 días. Las semillas germinaron a la temperatura ambiental de laboratorio, en condiciones de penumbra y después las plántulas continuaron en aclimatación en cuartos de cultivo por un periodo de dos semanas con la intensidad y fotoperiodo similar a los cultivos de segmentos de raíces. En las plántulas S2 hubo crecimiento masivo, por lo tanto, se visualizó la presencia de germinados.

7.2.3 Cultivo de raíces aisladas de plántulas

Dos lotes de plántulas aclimatadas S2 de 45 días de edad, se desinfectaron con NaClO (cloralex®) al 2 % por 1 min y se lavaron 3 veces con agua estéril. Luego, dentro de la campana de flujo laminar la raíz se diseccionó con la base caulinar, este proceso se realizó con un bisturí sobre una caja de Petri, a la cual se le colocó 2 ml de agua para evitar la de desecación de las raíces. Enseguida se transfirieron 5 raíces por cada frasco de vidrio Gerber® dosificados con 20 ml de medio de cultivo 0.1MS o 0.5MS. La viabilidad asepsia fue preevaluada como en la sección anterior con las plantas S1.

7.3 Medios de cultivo

Los medios de cultivo para raíces y semillas se formularon con sales básicas de Murashige y Skoog, 1962 (MS). El medio MS para raíces de campo, se preparó sin NH_4 (catálogo 2909 Sigma-Aldrich) a la mitad de la fuerza iónica (0.5MS- NH_4) en estado semisólido (agar al 4 %). El resto de los medios de cultivo para plántulas fueron líquidos estáticos y usaron MS+ NH_4 (catálogo 5519 Sigma-Aldrich) a 0.1 y 0.5 de fuerza iónica, en lo sucesivo denominados 0.1MS y 0.5MS. En ambas formulaciones de MS, se adicionaron vitaminas MS (catálogo M7150 Sigma Aldrich), 0.05 g/L de ácido ascórbico como antioxidante (catálogo A4544 Sigma-Aldrich), 0.036 g/L de NaHCO_3 (catálogo S5761, Merck/Sigma) para funcionar como C autótrofo y 1g/L de Sacarosa (Sac) de marca comercial (Walmart®) en función heterótrofa. Los fitorreguladores ácido indol-3-acético (AIA) y cinetina (CIN) fueron necesarios en un sistema específico. Estos productos se obtuvieron de Sigma-Aldrich (catálogos I2886 y K0753, respectivamente). Las soluciones de cultivo presentaron pH de 6 ± 0.2 por la acción buffer del NaHCO_3 añadido. Todos los medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave (Yamato SM300) a 121°C y 1 atm/15 psi durante 20 min.

7.4 Preparación de soluciones y dosis de Diclofenaco

El DCF se usó en presentación inyectable de 75mg/3ml (marca del Ahorro®) y de un ampolla se prepararon 250 ml de solución madre de DFC en concentración de 0.15 mg/ml de agua estéril. La solución madre se almacenó en un frasco ámbar.

La capacidad de absorción de luz del DCF a una longitud de onda de 276 nm (Hernández *et al.*, 2021) se verificó en la solución madre en dilución 1:10. Esta evaluación se realizó mediante la implementación de un escaneo espectral, que abarcó el rango de 180 nm a 350 nm, utilizando un espectrofotómetro (Shimadzu 1280). La curva de calibración se construyó en el rango de concentración de 0,015 mg/ml a 15 mg/ml de DCF frente a un blanco de agua.

7.5 Experimento de rizogénesis *in vitro*

7.5.1 Cultivo de raíces de campo

Los segmentos de raíces asépticas de P1, se cultivaron *in vitro* en medio de cultivo 0.5MS-NH₄ para realizar dos experimentos de inducción rizogénica. En el primero, previo al establecimiento aséptico de los cultivos, los explantes se rociaron tres veces con benomilo al 1 %. Además, para filtrar la carga de contaminación microbiana de las raíces de *T. domingensis* se usó el medio de cultivo en fase semisólida. La unidad de cultivo para los experimentos fue el frasco de vidrio Gerber® con tapas de policarbonato Magenta® con 20 ml de medio de cultivo. La evaluación de la viabilidad/asepsia, elongación de raíces y presencia de pelos radiculares, se realizó hasta registrar indicios visuales de rizogénesis. Los experimentos permanecieron en agitación (85 rpm), con una temperatura de 26±2°C, fotoperiodo de 16 horas luz, bajo luz blanca fría (85 μmoles de fotones m⁻² s⁻¹).

7.5.2 Inducción rizogénica de raíces de campo

En el segundo experimento se utilizó medio semisólido 0.5MS+NH₄, además, se añadieron los fitorreguladores AIA y CIN en concentraciones de 0.1 mg/L. Se diseñó un total de cinco tratamientos experimentales y dos controles (tabla 4).

Tabla 4. Tratamientos para la inducción rizogénica de raíces de campo.

Tratamiento	MS (%)	Sacarosa (%)	AIA (mg/L)	CIN (mg/L)	N
Control autótrofo (CA)	50	---	---	---	5
Control heterótrofo (CH)	50	1	---	---	5
0.5MS-AIA	50	1	0.1	---	5
0.5MS-CIN	50	1	---	0.1	5
0.5MS-AIA/CIN	50	1	0.1	0.1	5

7.5.3 Inducción rizogénica en raíces juveniles in vitro

El objetivo del experimento fue seleccionar la mejor condición de rizogénesis en seis medios de cultivo a partir de raíces aisladas del suministro S2, las cuales se desinfectaron con NaClO (cloralex®) al 2 % por 1 min y se lavaron 3 veces con agua estéril. Luego, la raíz con base caulinar se diseccionó en la campana de flujo laminar sobre una caja de Petri a la que se colocó una lámina de agua estéril. Enseguida se transfirieron 5 raíces por cada frasco de vidrio Gerber® dosificados con 20 ml de medio de cultivo 0.1MS y 0.5MS con vitaminas, NaHCO₃, ácido ascórbico, sacarosa y 1 mg/L de AIA y CIN, cada tratamiento contó con cinco repeticiones. La tabla 5, describe los tratamientos diseñados.

Tabla 5. Tratamientos para la inducción rizogénica de raíces provenientes de plántulas *in vitro*.

Tratamiento	MS (%)	Sacarosa (%)	AIA (mg/L)	CIN (mg/L)	N
Control autótrofo (CA-0.1MS)	10	---	---	---	5
Control heterótrofo (CH-0.1MS)	10	1	---	---	5
0.1MS-AIA/CN	10	1	0.1	0.1	5
Control autótrofo (CA-0.5MS)	50	---	---	---	5
Control heterótrofo (CH-0.5MS)	50	1	---	---	5
0.5MS-AIA/CN	50	1	0.1	0.1	5

7.6 Experimentos de toxicidad y remoción del Diclofenaco en plántulas y plantas desarrolladas *in vitro*

En dos experimentos independientes se analizaron simultáneamente la remoción a mediano y corto plazo y la toxicidad aguda de plántulas. Consecutivamente, remoción y toxicidad en un experimento de plantas regeneradas de raíces juveniles a corto plazo. Los experimentos se realizaron siguiendo la guía de la APHA (Rice *et al.*, 2017) con modificaciones. El DCF residual se cuantificó mediante la detección de las absorbancias registradas por el espectrofotómetro UV/Vis a 276 nm y fue calculado a partir de la ecuación lineal obtenida $[Y \text{ (mg/mL)}] = (\text{Abs}275 \text{ nm} - 0.0219) / 0.7049]$

Para calcular el porcentaje de remoción se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Remoción} = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \times 100$$

Donde:

C_i = concentración inicial (mg/L)

C_f = concentración final después del tratamiento (mg/L)

Para la velocidad de remoción del DCF se dispuso de la siguiente ecuación que describe un decaimiento exponencial de primer orden:

$$C(t) = C_0 e^{-kt}$$

Donde:

$C(t)$ = concentración en el tiempo (mg/L*día)

C_0 = concentración inicial (mg/L)

$k > 0$ = constante de decaimiento (d⁻¹)

t = tiempo de tratamiento (días).

Para los cálculos la forma exponencial fue convertida en su forma logarítmica lineal:

$$\ln \ln (Ct) = \ln C_0 - kt$$

Donde:

$\ln C_0$: Ordenada al origen

$-k$: pendiente: esta función matemática representa una recta en función de tiempo que indica que el proceso de remoción disminuye de manera proporcional a la cantidad presente en cada instante.

7.6.1 Toxicidad aguda y remoción a punto final

En este experimento se utilizaron plántulas *in vitro* para evaluar la toxicidad aguda y la remoción de DCF a mediano plazo en diferentes concentraciones de DCF. En resumen, una vez concluida la fase de aclimatación de las plántulas cultivadas *in vitro* en 0.1 MS del suministro S1, se seleccionaron al azar aquellas con un desarrollo de hojas y raíces robusto y se transfirieron una a una con una pinza a tubos de vidrio con 5 ml de medio nutritivo 0.1 MS fresco. Transcurridos tres días, se añadieron 5 ml del mismo medio, que incluían las alícuotas de DCF correspondientes, adicionadas con micropipeta. Las unidades experimentales continuaron en la cámara de crecimiento en condiciones controladas. Se utilizó un diseño experimental unifactorial de tratamientos para valorar el impacto de 1, 3, 5, 7 y 10 mg/L de DCF. El diseño incluyó cinco réplicas por tratamiento y un grupo de control sin exponer.

Se registraron los síntomas de toxicidad en el color foliar (CF) y la longitud de las raíces (LR) a los 1, 3 y 6 días. El cambio de CF se expresó en porcentajes, conforme a la distribución de su escala ordinal de severidad decreciente (tabla 6). Esta escala cualitativa (1, 0,75, 0,5 y 0,25) se definió a partir de la intensidad del efecto observado en los resultados experimentales y permitió clasificar la respuesta en niveles altos, moderados y bajos. Finalmente se determinó la CI_{50} de CF y LR en cada concentración.

Tabla 6. Escala de severidad para evaluar toxicidad de hojas.

Color foliar	Severidad
Verde intenso	1.00 (Muy alta)
Verde opaco	0.75 (Alta)
Verde opaco + algunas hojas transparentes	0.50 (Moderada)
Hojas casi totalmente transparentes	0.25 (Baja)

7.6.2 Toxicidad aguda y cinética de remoción

El segundo experimento se ejecutó con plántulas aclimatadas 15 días, provenientes del sistema S2. Se procedió de manera análoga al primer experimento respecto al manejo previo de las plántulas y las condiciones ambientales durante el bioensayo.

El experimento se diseñó con las concentraciones de DCF de 1, 3, 5, 7 y 10 mg/L. El DCF residual se analizó en intervalos de 1, 2, 3, 4 y 7 días y se obtuvieron el porcentaje y la velocidad de la remoción de DCF mediante las fórmulas previamente descritas. Simultáneamente con la separación de la solución de DCF residual se cosechaban los especímenes de la unidad de cultivo para observar los indicios de toxicidad manifestados a través de indicadores de fragilidad del tejido por ruptura o deshidratación por individuo, esto ocurrió durante la preparación de la biomasa. Para estimar la biomasa [(mg)/planta (w.f.)], se retiró el agua superficial utilizando papel absorbente comercial e inmediatamente se almacenaron en un desecador envueltos en papel aluminio de peso conocido. Finalmente, se pesaron en balanza analítica. Finalmente, se procedió a la estimación de la IC50 de la inhibición de crecimiento en biomasa por DCF.

7.6.3 Toxicidad y remoción a concentración fija

El último experimento analizó el efecto de la toxicidad aguda y la remoción del DCF usando los cultivos regenerativos procedentes de la evaluación rizogénica y la concentración de DCF que reportó la primera inhibición máxima de crecimiento de plantas. El diseño experimental fue de dos factores y controles. Los factores considerados fueron la presencia o ausencia del balance 0.1 mg/L AIA/ 0.1 mg/L CIN. La condición de referencia para el medio de cultivo fue una concentración de sacarosa al 1 % en 0.5MS suplementado. Se utilizaron el grupo de control con sacarosa (Control heterótrofo) y el grupo heterótrofo que contenía AIA/CIN para diferenciar el efecto del DCF con y sin AIA/CIN. La duración de la prueba fue de 15 días. Para ello, en la unidad de cultivo Gerber®, se sustituyó el mismo volumen del

medio de cultivo anterior fresco. Posteriormente, se añadió una microalícuota de la solución madre para una concentración 7 mg/L de DCF. La transferencia de las plantas y la adición de la alícuota del tóxico se realizaron dentro de la campana de flujo laminar y se colocaron en el cuarto de crecimiento en las mismas condiciones de luminosidad con fotoperiodo citadas. Cada tratamiento se repitió cinco veces, y en los controles se triplicaron con tres plantas cada uno. Al igual que en el experimento anterior, se analizaron los síntomas finales de toxicidad y se calculó el porcentaje de remoción de DCF. Se utilizaron los indicadores cualitativos de respuesta tóxica en raíces y hojas, incluyendo pigmentación, turgencia y necrosis, para evaluar la sintomatología.

7.7 Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica v7. Para especificar la influencia de los factores experimentales se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) y covarianza (ANCOVA). El ANCOVA se aplicó a las respuestas de color final de raíces autótrofas, para las respuestas de viabilidad/asepsia, elongación de la raíz y pelos radiculares de raíces heterótrofas se usó ANOVA y un análisis de comparación múltiple post hoc utilizando la prueba de Tukey ($p < 0.05$). La rizogénesis en los explantes se analizó utilizando tanto el ANOVA como la prueba exacta de Fisher ($p < 0.05$). Además, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$) para el porcentaje de germinación y porcentaje de longitud de la raíz. El modelo de regresión múltiple se usó para comparar los efectos del DCF sobre el porcentaje y la velocidad de remoción, para los parámetros fisiológicos de clorosis y longitud de raíz, para la inhibición por concentración. Las IC_{50} se estimaron mediante regresión logística (Logit) aplicada a curvas dosis–respuestas monótonas de color foliar y longitud de raíz que cruzaron el 50 % de inhibición una única vez. En curvas con cambios de pendiente de la inhibición de la biomasa, se utilizó regresión segmentada, calculándose la IC_{50} únicamente en el tramo correspondiente.

8. RESULTADOS

8.1 Establecimiento de plantas y raíces asiladas

8.1.1 Calidad germinativa en sistemas de cultivo *in vitro* a partir de semillas

El punto de partida para establecer semillas germinativas fue la dehiscencia natural de los aquenios de *T. domingensis* (figura 3A). En condiciones controladas, la eficiencia germinativa alcanzó el 94 % en el tubo de vidrio en 10 % MS, mientras que en la caja de Petri resultó ineficiente para cuantificar el desarrollo radicular. Aunque los dos sistemas germinativos exhibieron asepsias visuales comparables, el proceso regenerativo fue más robusto en la caja de Petri (figura 3C).

La calidad visual de los germinados provenientes de ambos tipos de cultivo fue análoga en términos de ausencia de clorosis, necrosis o daños visibles. Lo anterior se confirma al observar el buen aspecto de hojas y raíces de las figuras 3B y 3C.

Tabla 7. Germinación y longitud radicular de plántulas S1.

Días	Germinación (%)	Longitud de raíz (cm) n=6
5	46	0b
10	91	1.2b
17	94	1.4a

Kruskal-Wallis $p < 0.05$. $n = 185$. Literales con letras diferentes presentan promedios desiguales.

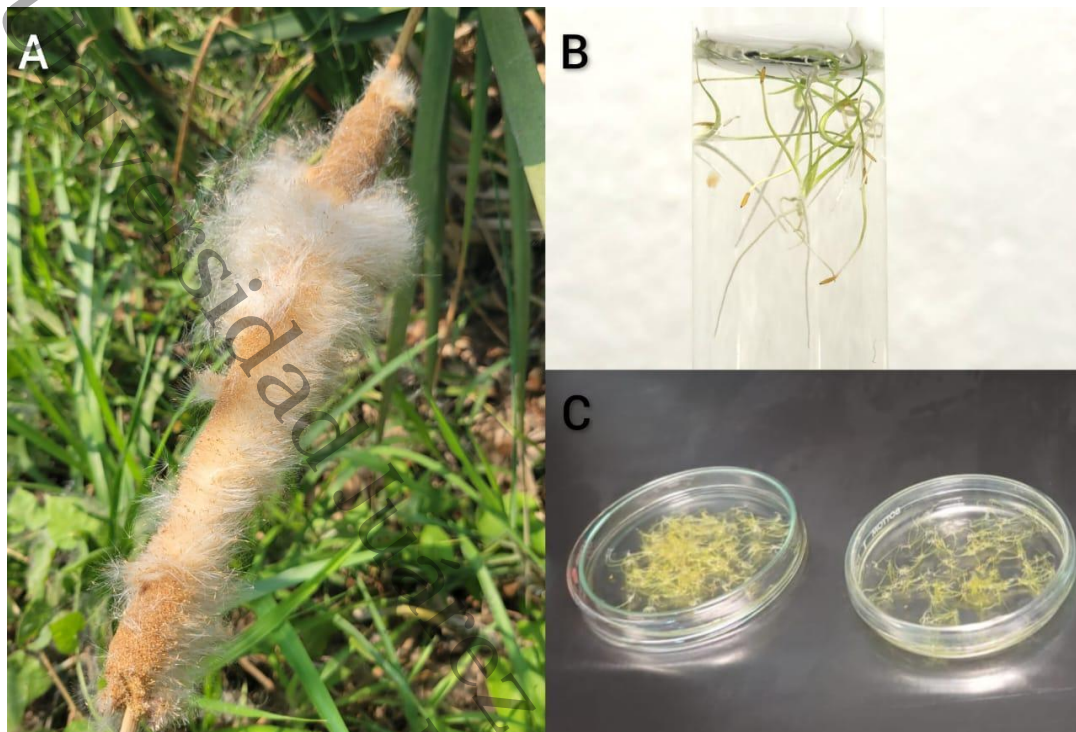


Figura 3. Calidad y sanidad visual de la planta de campo y regenerantes *in vitro* de *Typha domingensis*. A) planta mostrando dehiscencia de achenios, B) plántulas en tubos de vidrio y C) plántulas en la caja de Petri.

8.1.2 Viabilidad/asepsia y rizogénesis autótrofa de raíces adultas

En 0.5MS(-NH₄), los cultivos autótrofos de raíces primarias (blancas) y secundarias o adventicias (blancas y verdes) fueron 100 % viables/asepticos, sin mostrar influencia en el alargamiento radicular el tiempo de cultivo ($p= 0.42$), el antifúngico benomilo ($p=0.08$, Fisher) y el tipo de raíz ($p=0.19$). Una característica notable de la raíz verde fue el cambio de coloración inicial a blanco al finalizar el periodo de cultivo. En la figura 4 se aprecia la relación inversa entre la cantidad de raíces verdes y blancas.

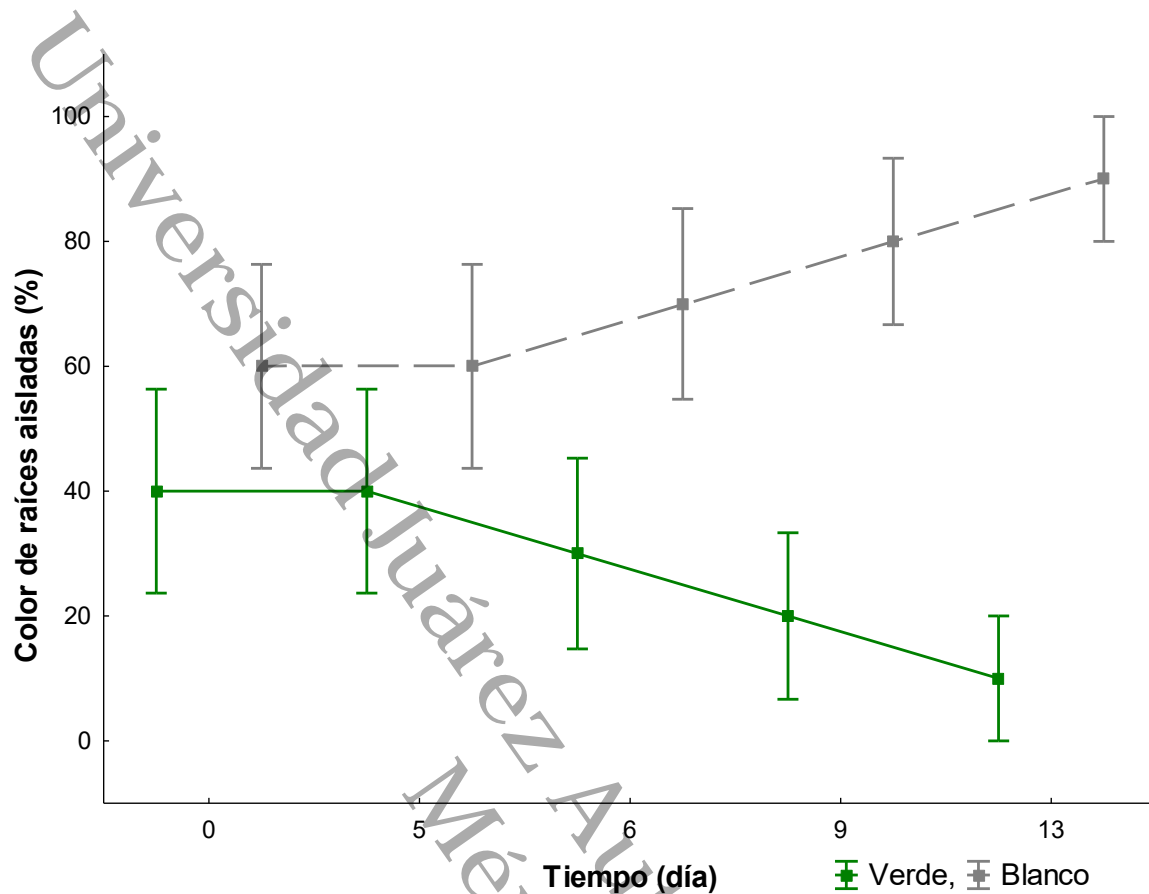


Figura 4. Porcentaje del color de las raíces aisladas de *Typha domingensis* autótrofas cultivadas en 0.5MS(-NH₄).

8.1.3 Viabilidad/asepsia y rizogénesis heterótrofa de raíces adultas

El sistema *in vitro* de raíces de campo cultivadas en 0.5MS+NH₄ y estimuladas con fitorreguladores en condición heterótrofa demostró ser ineficaz debido a la alta proporción de cultivos con contaminación fúngica y bacteriana, así como por inhibiciones del crecimiento (figura 5). La variabilidad evidenciada en los tratamientos de raíces adultas con AIA, CIN y AIA/CIN y los controles heterótrofo y autótrofo ($p < 0.05$), otorgó al control heterótrofo la relación viabilidad/asepsia más eficaz en un 60 %, seguido por los tratamientos con CIN, AIA/CIN y AIA (figura 6). El control autótrofo demostró ser el último en manifestar eficacia ($p > 0.05$). En el día

cuatro el porcentaje de viabilidad/asepsia alcanzó su punto máximo, disminuyendo progresivamente en el tiempo (figura 6).

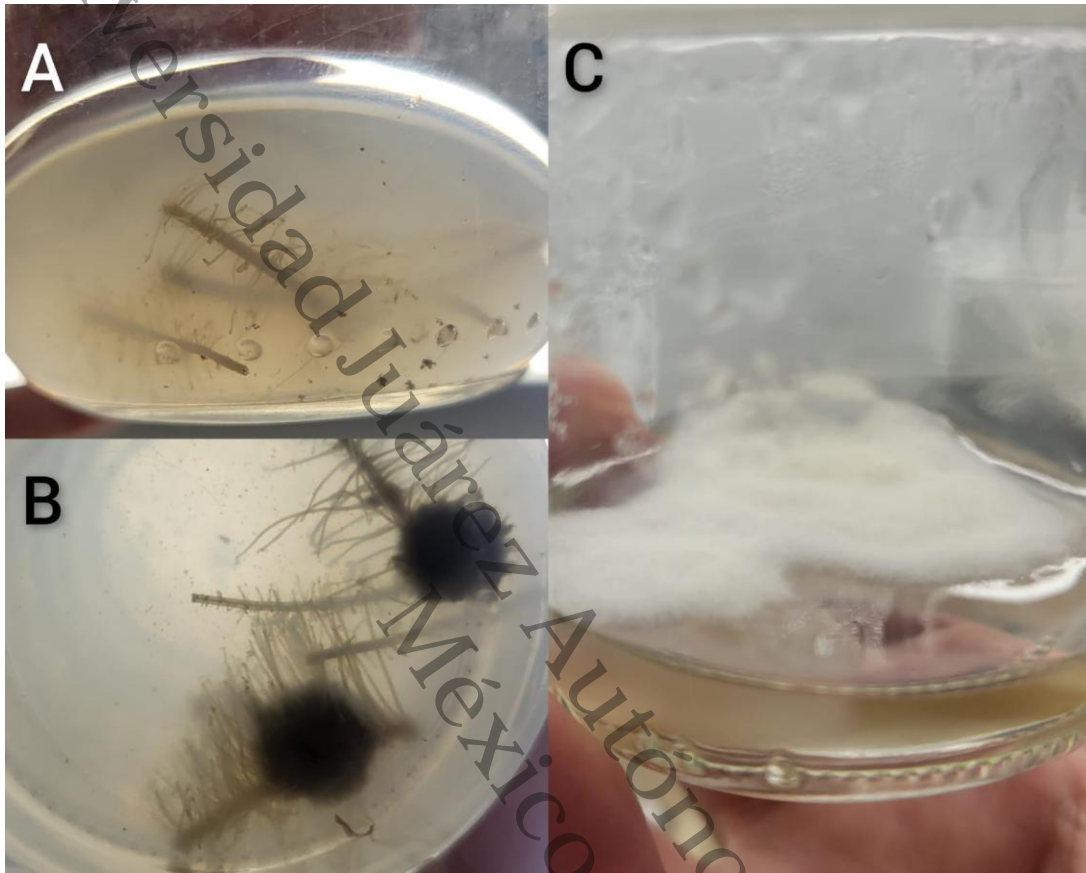


Figura 5. Contaminación visual en el cultivo heterótrofo de raíces aisladas de *Typha domingensis*. A) opacidad del medio de cultivo por formación de masa mucilaginosa, B) colonias bacterianas oscuras, C) masa fúngica blanca.

Respecto a la elongación, se observó una variación significativa entre los tratamientos ($p > 0.05$), aunque dicha variación no se evidenció en el pelo radicular ($p > 0.05$). La elongación máxima del 60 % se manifestó a partir del décimo día ($p > 0.05$). Los cultivos con fitorreguladores causaron la menor elongación frente a los dos controles con y sin sacarosa (figura 7). No obstante, la elongación y los pelos radiculares finales de ambos controles presentaron similitudes (figura 8). Una

referencia de estas dos características de crecimiento radicular se muestra en la figura 9.

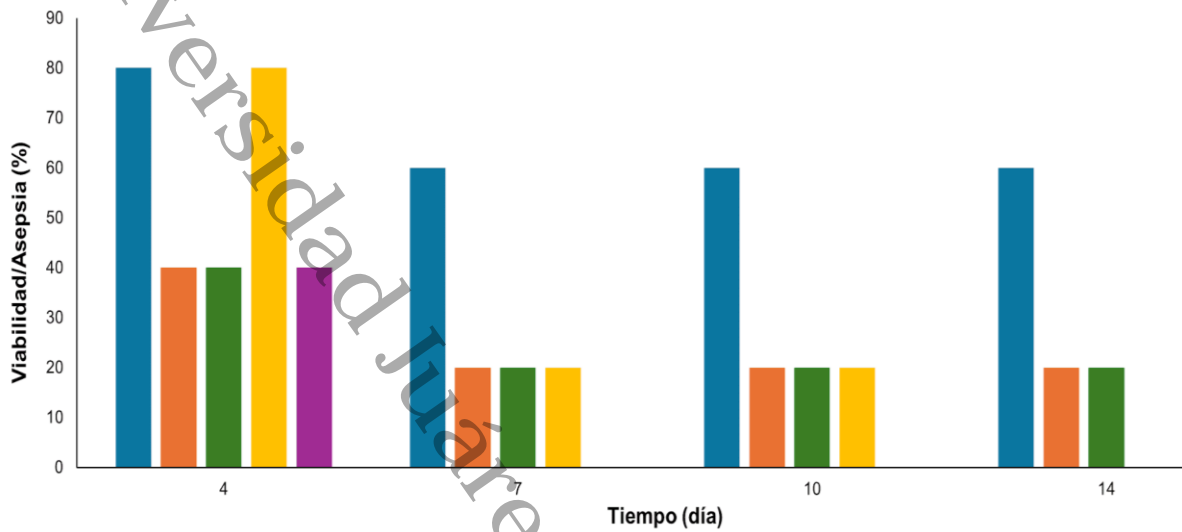


Figura 6. Viabilidad/asepsia de raíces aisladas de *Typha domingensis* durante la etapa experimental. ■ CA, ■ CH, ■ 0.5MS-CIN, ■ 0.5MS-AIA, ■ 0.5MS-AIA/CIN.

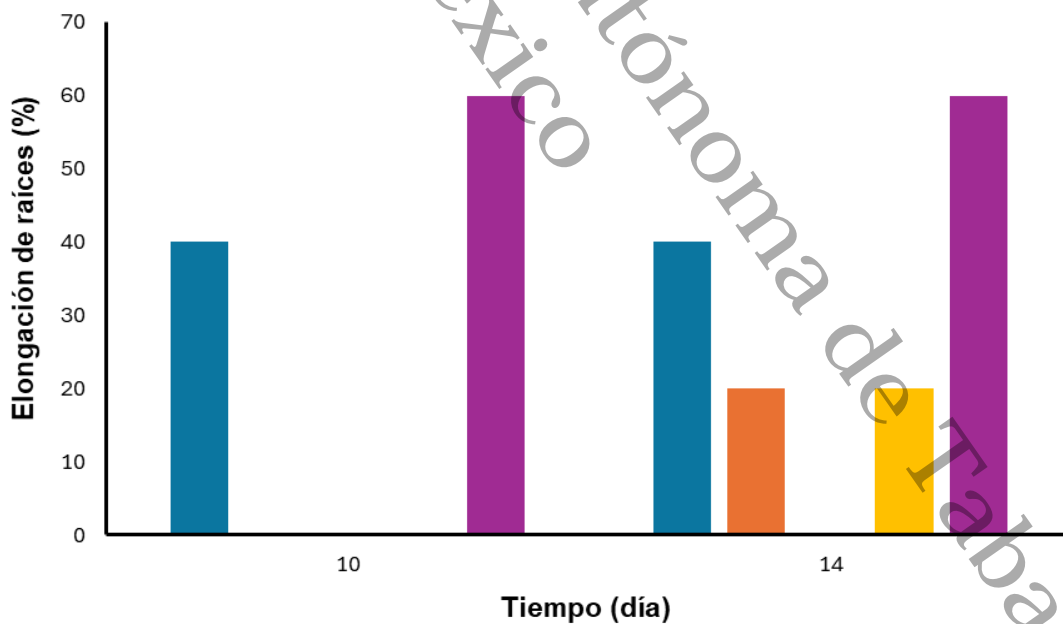


Figura 7. Elongación de raíces aisladas de *Typha domingensis*. ■ CA, ■ CH, ■ 0.5MS-CIN, ■ 0.5MS-AIA.

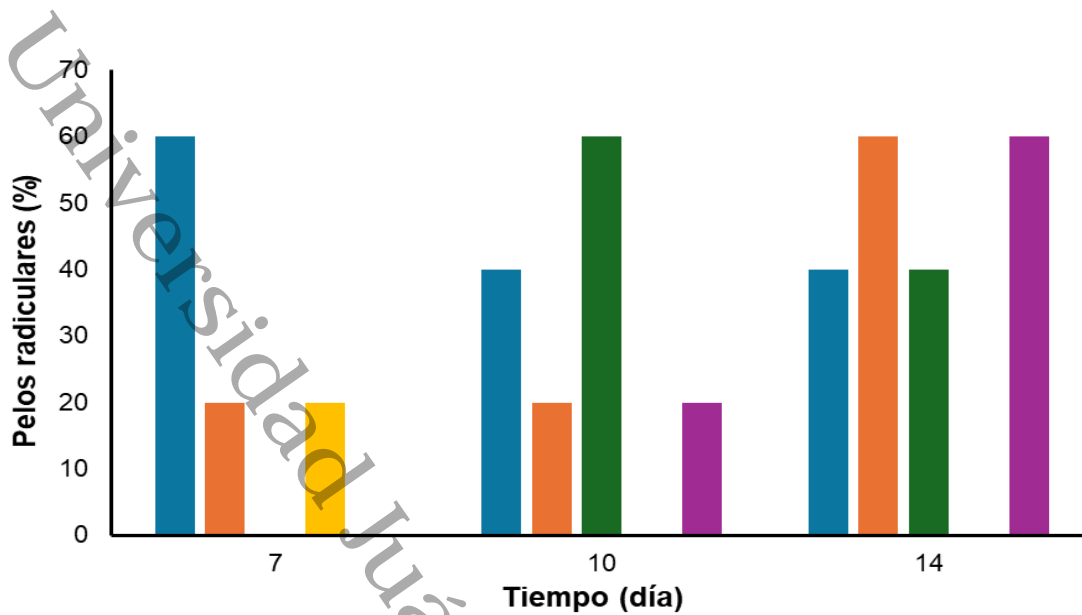


Figura 8. Pelos radiculares en raíces aisladas de *Typha domingensis*. ■ CA, ■ CH, ■ 0.5MS-CIN, ■ 0.5MS-AIA, ■ 0.5MS-AIA/CIN.

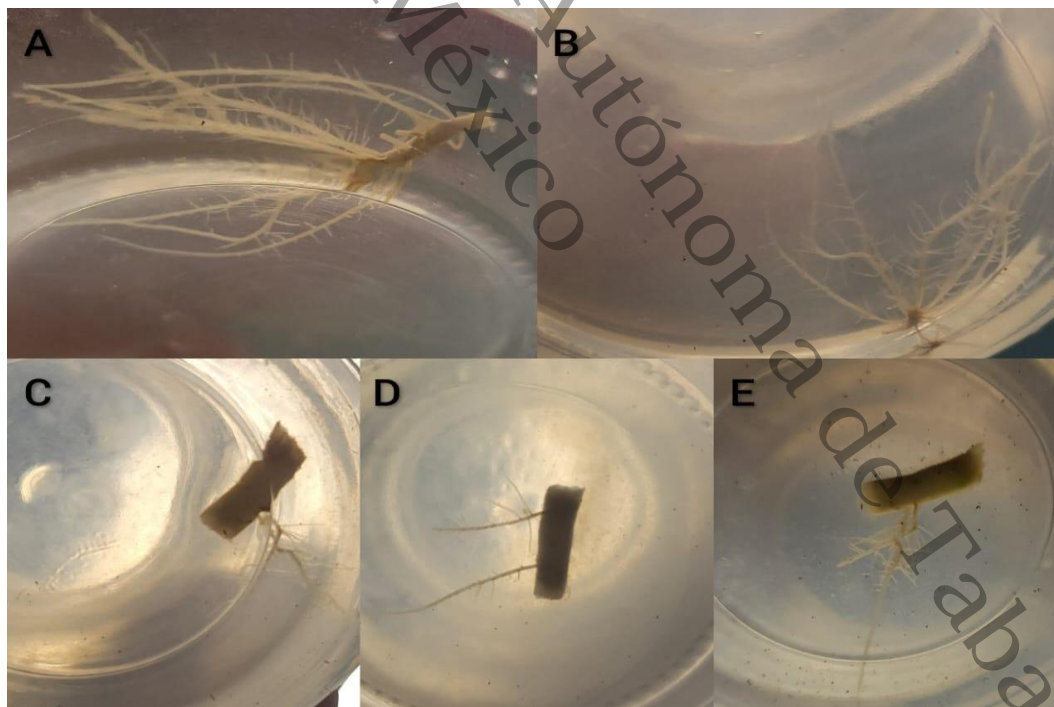


Figura 9. Raíces elongadas y extensión de pelos radiculares en los explantes de *Typha domingensis* por tratamiento. A) CA, B) CH, C) 0.5MS-AIA, D) 0.5MS-CIN, E) 0.5MS-AIA/CIN.

Además, para interpretar el efecto estimulador o inhibitorio de AIA, CIN o AIA/CIN en los cultivos heterótrofos, el análisis introspectivo logró detectar las modificaciones en las tres variables en cuestión ($p > 0.05$). El 35 % de cultivos fue viable/aséptico, mientras que el 30 % presentó evidencias de crecimiento de la raíz, tanto en términos de elongación radicular como en la formación de pelos radiculares ($p < 0.05$). El AIA, individual y con CIN, estimuló la presencia de pelos radiculares en el 27 % de los cultivos, comparado con solo CIN. En cambio la elongación alcanzó promedio de 10 % en AIA y CIN, y la inhibición fue total en la relación AIA/CIN. El patrón de crecimiento durante el experimento evidencia que, en primera instancia, se produce una proliferación de los pelos radiculares, seguida por el desarrollo del explante de raíz en términos de longitud. Estas respuestas de crecimiento en 0.5 MS (+NH₄) fueron invisibilizadas el resto del tiempo conforme progresó la contaminación. Independiente a la participación de los factores de crecimiento en ambos procesos, el análisis destacó aspectos relevantes que son fundamentales para seleccionar el tipo de raíz y el fitorregulador más adecuado de *Typha* en futuras investigaciones. Finalmente, los resultados obtenidos al término del experimento indicaron un incremento de 20 % en elongación de raíz y 35 % de formación de pelos radiculares, lo cual demuestra que no resultó confiable realizar una evaluación toxicológica de DCF utilizando cultivos de raíces indefinidas procedentes de explantes de campo.

Un aspecto relevante de este sistema de cultivo *in vitro* radicular es la observación de que las raíces de color verde y paja mostraron menor viabilidad en comparación con las raíces blancas en el tratamiento 0.5MS-CIN, 0.5MS-AIA y 0.5MS-AIA/CIN. Este fenómeno se evidencia en la figura 10, donde se muestra que la proporción de raíces verdes y blancas/pardas de aumentaron a 2.25 a 14 días de cultivo. El análisis del subgrupo de cultivos con raíces homogéneas, tonalidad blancas, asépticas y viables, confirmó que el tiempo de cultivo tuvo un impacto negativo en la asepsia e inviabilidad de los cultivos y un efecto positivo en la elongación de la raíz principal y los pelos radiculares ($p < 0.05$).

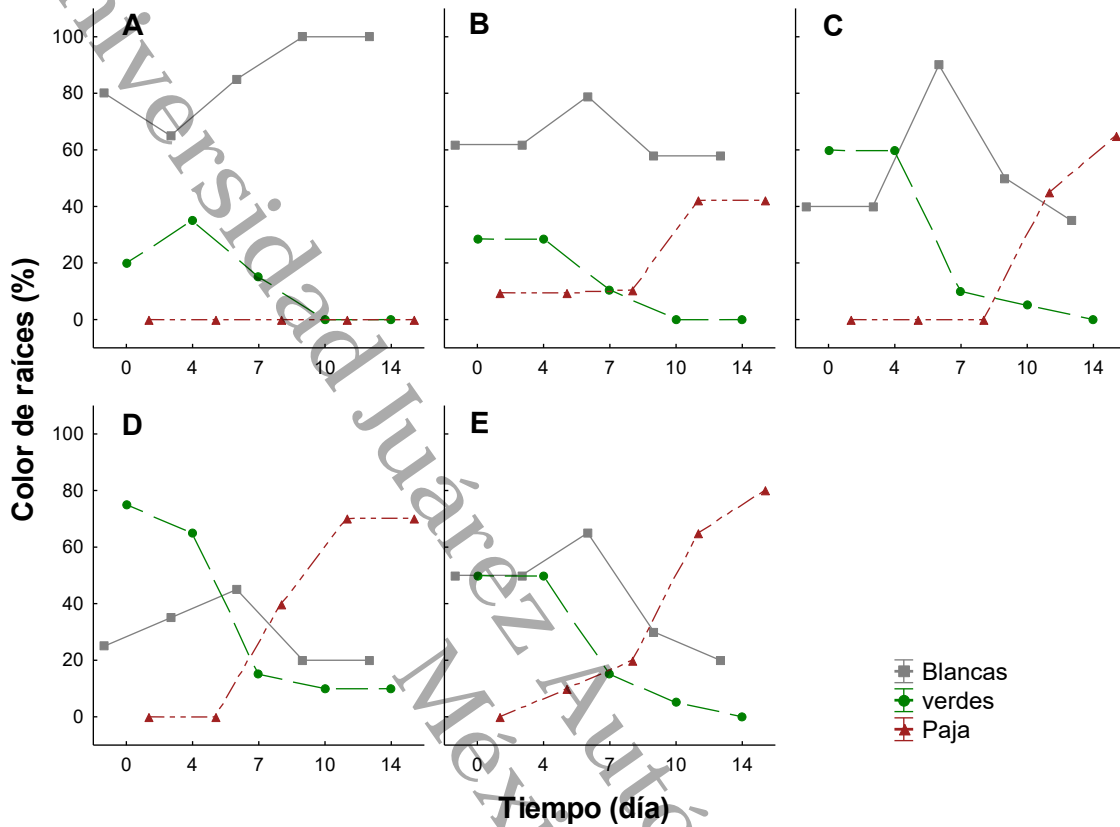


Figura 10. Cambio en el color de las raíces de *Typha domingensis* en los tratamientos. A) CA, B) CH, C) 0.5MS-CIN, D) 0.5MS-AIA, E) 0.5MS-AIA/CIN.

8.1.4 Rizogénesis heterótrofa de sistemas radiculares juveniles

En el sistema radicular aislado de plantas juveniles, la inducción rizogénica que se esperaba en 0.1MS o 0.5MS con la relación de los fitorreguladores 0.1mg/L AIA:0.1 mg/L CIN fue inexistente bajo autotrofia o heterotrofia (figura 11). Además, el 100 % de los cultivos se contaminaron al término de la evaluación (figura 12), la viabilidad inicial monitorizada mediante la turgencia y la flotabilidad del explante en los controles 0.1 MS y 0.5 MS autótrofos disminuyó drásticamente ($p < 0.05$). La pérdida de viabilidad del sistema radicular se aprecia en la misma figura. En

presencia de los fitorreguladores el medio de cultivo presentó turbidez, sin embargo no se asoció a la contaminación.

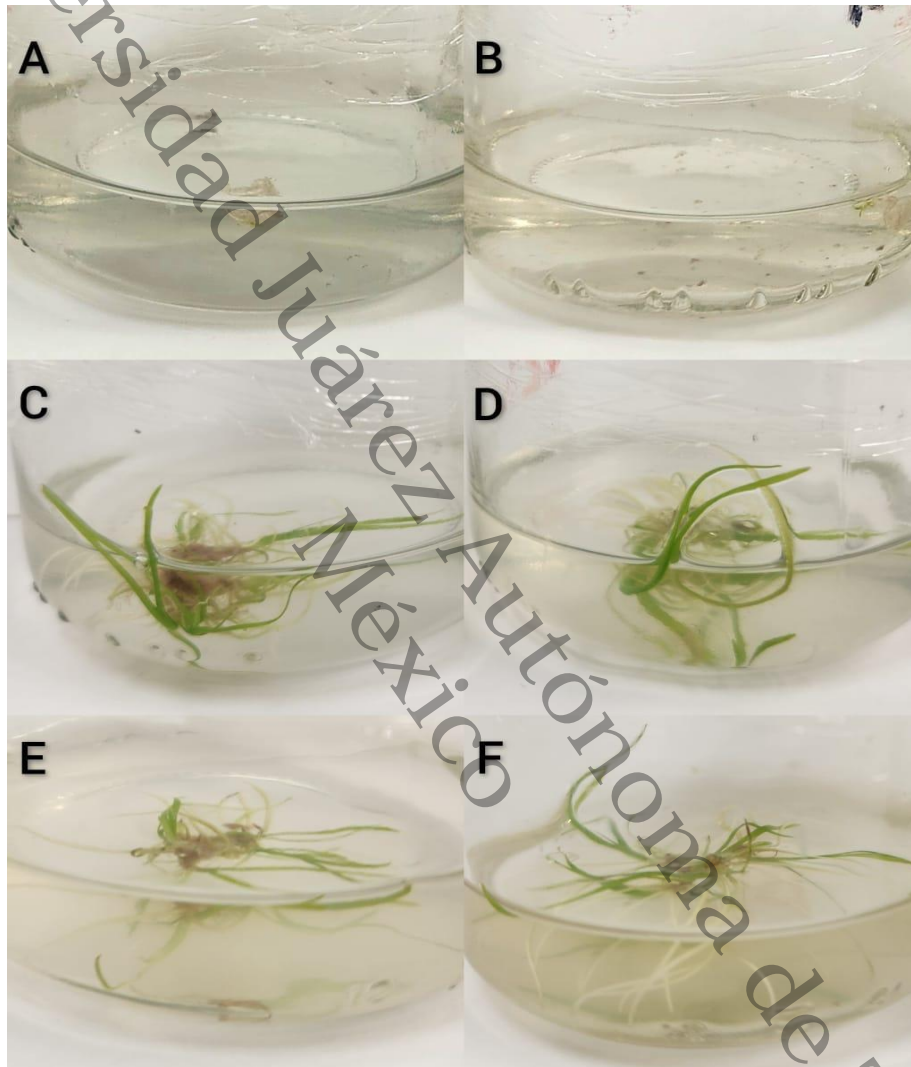


Figura 11. Viabilidad de plántulas de *Typha domingensis* regeneradas en cultivos autótrofos (CA) y heterótrofos (CH). A) CA-0.1MS, C) CH-0.1MS, E) 0.1MS-AIA/CIN, B) CA-0.5MS, D) CH-0.5MS, F) 0.5MS-AIA/CIN.

Notablemente, la condición autótrofa falló para cualquier estimulación organogénica (figura 11A y 11B). En cambio, la organogénesis foliar y radicular fue favorecida sobre las demás variables de estudio, en todos los cultivos heterótrofos de las dos concentraciones iónicas MS, los cuales culminaron en el desarrollo de plantas completas con raíces blancas (figura 11C a 11F). Otra característica distintiva en los cultivos fueron la formación de abultamientos café no identificados, similares a masas celulares que se formaron lentamente sobre la base caular de las plantas, en mayor o menor proporción (figura 11C, 11E y 11F).

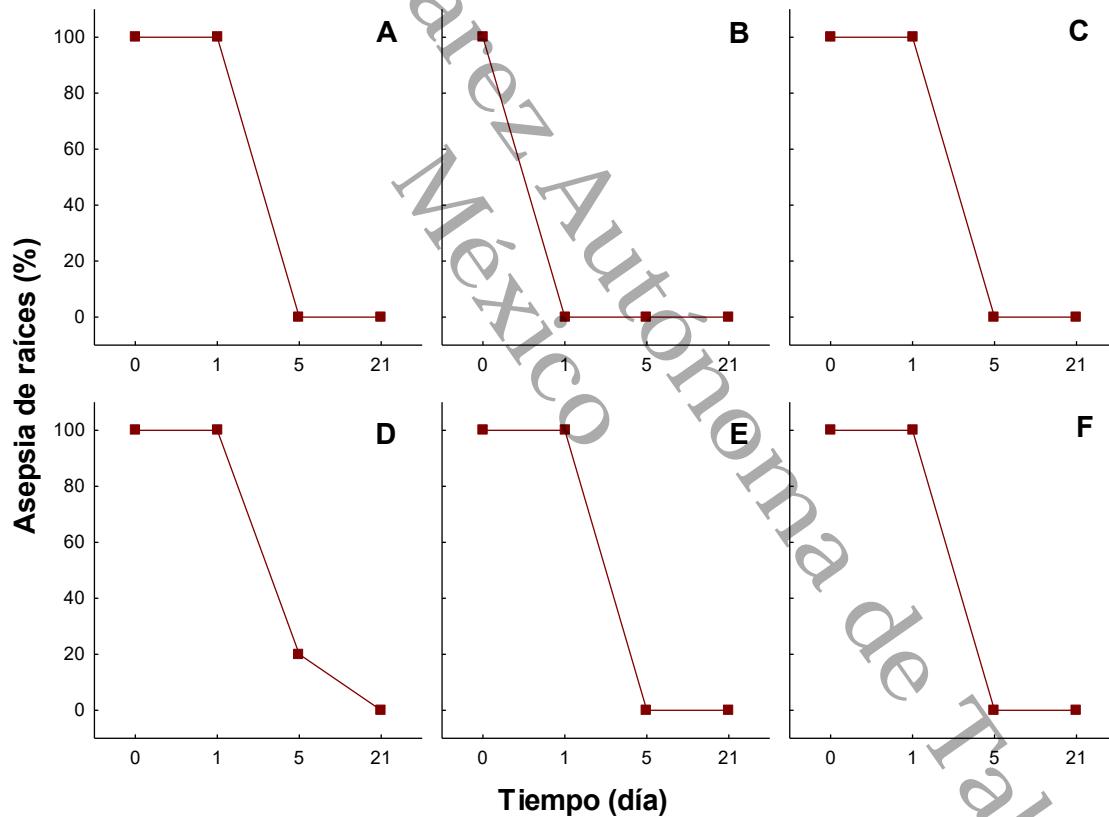


Figura 12. Asepsia del sistema radicular aislado de *Typha domingensis*. A) CA-0.1MS, B) CH-0.1MS, C) 0.1MS-AIA/CIN, D) CA-0.5MS, E) CH-0.5MS, F) 0.5MS-AIA/CIN.

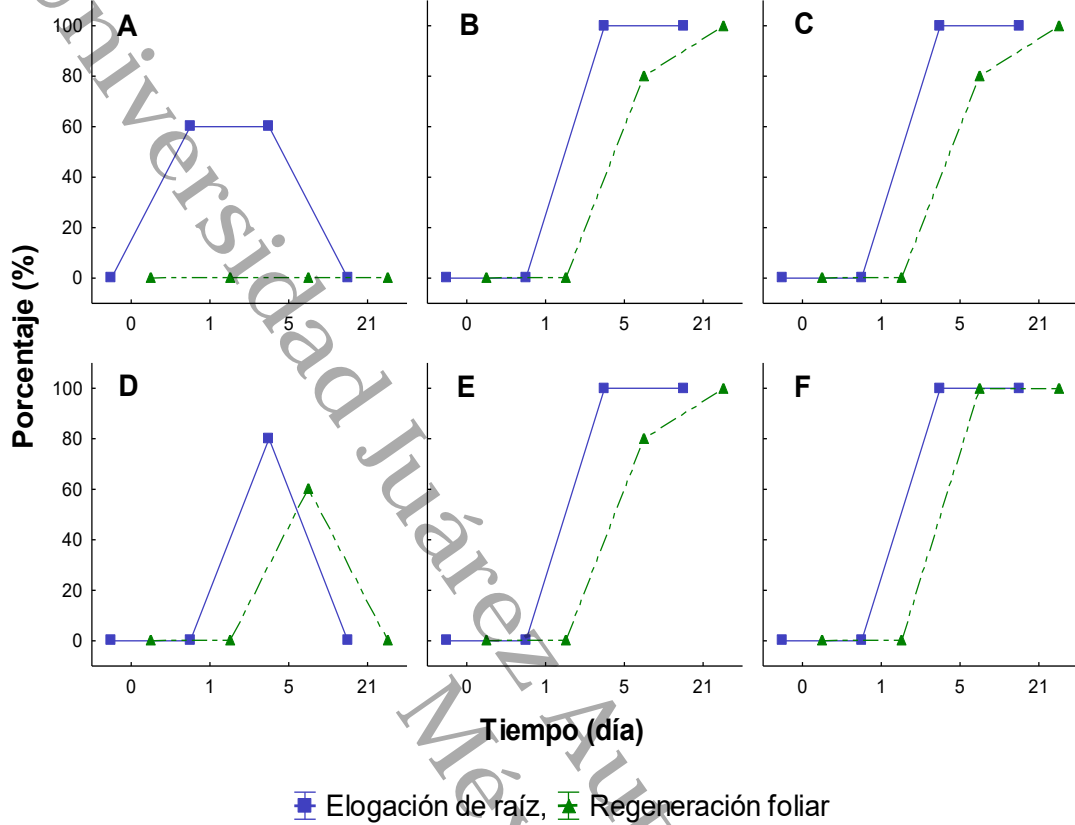


Figura 13. Plantas de *Typha domingensis* con organogénesis radicular y foliar. A) CA-0.1MS, B) CH-0.1MS, C) 0.1MS-AIA/CIN, D) CA-0.5MS, E) CH-0.5MS, F) 0.5MS-AIA/CIN.

En la figura 13 se distinguen la organogénesis radicular y foliar por la interacción de los tratamientos en intervalos de tiempo de la evaluación. Sobresalieron los medios de cultivos heterótrofos de 0.5MS sobre los de 0.1MS, por mostrar 100 % de elongación de raíz y hojas, aunque con la relación AIA/CIN presentaron desarrollo más vigoroso (figura 11F). En 0.1MS heterótrofo con y sin fitoreguladores dieron evidencias de pilosidad a los 21 días, sin mostrar diferencias estadísticas con el resto de los tratamientos heterótrofos (KW 0.05). El cultivo de plantas en 0.5 MS con y sin fitoreguladores fueron seleccionados para continuar las etapas experimentales de toxicidad.

8.2 Toxicidad del Diclofenaco

8.2.1 Sintomatología tóxica – Evaluación I

En promedio, las plántulas de *T. domingensis* concluyeron con cambios marcados en la CF, sin necrosis y una LR de 0.83 cm con los cinco tratamientos de DCF (figura 14). En la misma figura, se aprecia la transparencia del medio acuoso de las plantas expuestas a DCF en 0.1 MS, lo cual se consideró equivalente a una asepsia total de 100 % e indicadora de ausencia de sinergias microbianas..

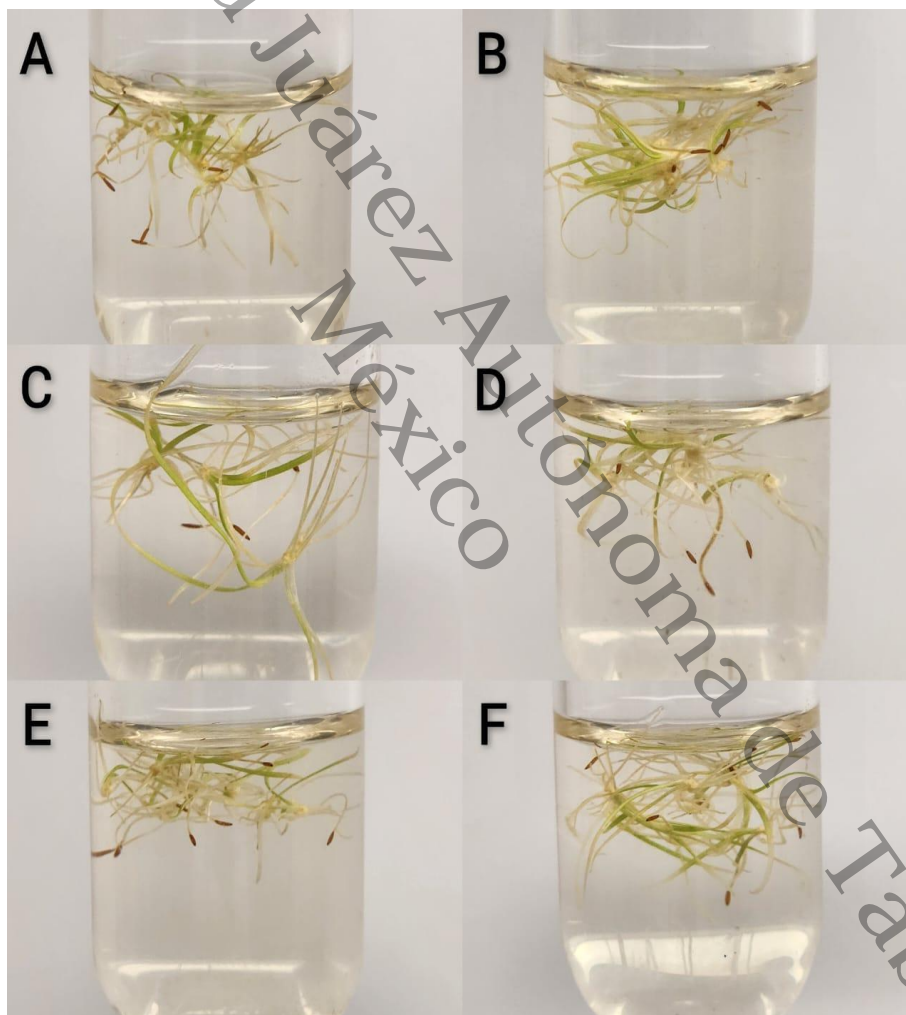


Figura 14. Síntomas de toxicidad del Diclofenaco en las plantas regeneradas de *Typha domingensis*. A) control, B) 1 mg/L de DCF, C) 3 mg/L de DCF, D) 5 mg/L de DCF, E) 7 mg/L de DCF, F) 10 mg/L de DCF.

Comparativamente, las plantas del control (n=4) alcanzaron un nivel medio de clorosis, correspondiente a hoja color de verde tenue con algunas transparentes y LR de 1 cm (figura 14). Esta prueba toxicológica se realizó con el suministro de germinados S1, por lo que se presume un estrés generalizado causado por la transferencia a medio nutritivo fresco, porque las plantas tardaron en aclimatación 2 meses (junio-agosto) sin recambio de medio

8.2.1.1 Variación de los parámetros fisiológicos.

Los estadígrafos obtenidos de los modelos de regresión múltiple concentración-tiempo sobre las respuestas de clorosis y longitud de la raíz, se presentan en la tabla 8. El efecto de la toxicidad de estas dos variables dependientes mostró influencia de la concentración de DCF y el tiempo de exposición, siendo el ajuste de $R=0.96$ altamente significativo ($p=0.0001$). La pequeña diferencia entre $R^2=0.92$ y $R^2_{aj}=0.9$, sugiere que el predictor es adecuado y relevante. Por lo tanto, los tres coeficientes respaldan la confiabilidad del modelo, su poder explicativo y su utilidad para analizar y predecir la clorosis dentro del contexto del estudio. Sin duda, la forma de crecimiento entorchada de las raíces en el cultivo líquido fue la limitante técnica para medir eficientemente la longitud radicular (figura 14).

La clorosis fue 7.4 veces mayor al sexto día, asimismo, esta se registró a partir de 7 y 10 mg/L DCF, mientras que entre 1mg/L y 5 mg/L fue menos severa hasta los tres días, comparado con la clorosis media inicial del control ($p=0.0001$). Por las interacciones, tiempo y concentración de DCF, el último día registraron clorosis máximas en 3, 5, 7 y 10 mg/L de DCF y al tercer día en 10 mg/L ($p=0.02$). Cabe destacar que de este set de plantas, las del control concluyeron en clorosis máxima ($p=0.0001$).

Tabla 8. Modelos de regresión respuesta concentración-tiempo.

Variable	R	R ²	R ² aj	p
Clorosis	0.96	0.92	0.90	0.001
Longitud raíz (cm)	0.45	0.20	-0.07	0.74

8.2.1.2 Curvas de concentración-inhibición y IC₅₀ de Diclofenaco

Los parámetros de la regresión concentración-inhibición de la ICF describieron un modelo ajustado muy significativo ($p=0.0001$), comparado con el modelo de % ILR no significativo ($p=0.6$) (tabla 9).

Las curvas de ICF e ILR de las plántulas en el tiempo por concentración de DCF se localizan en la figura 15. En oposición con la menor magnitud de IRL, el ascenso temporal de ICF fue evidenciado en todas las concentraciones por lo cual la ICF resulta mejor predictor de la toxicidad de DCF. Las curvas concentración-inhibición de la ICF en el gradiente de concentración de DCF se muestran en la figura 15.

Las curvas de ICF1d e ICF3d presentaron una forma sigmoidal simétrica, característica de respuestas dosis-dependientes clásicas. El patrón sigmoidal indica que la inhibición aumenta a bajas concentraciones de DCF, alcanza una fase de estabilización intermedia y posteriormente se incrementa nuevamente, configurando una respuesta de doble pendiente. La transición gradual de concentración intermedia no ocurrió en ICF6d, su firma fue semisigmoidal. Las tres curvas de ICF permitieron validar la IC₅₀ mediante regresión logística (Logit) (tabla 10). En conjunto, las IC₅₀ de ICF se definieron en un patrón que indicó una alta sensibilidad temprana del sistema fotosintético al DCF.

Tabla 9. Parámetros del modelo de regresión inhibición-tiempo de las variables dependientes.

Modelo	% ICF	% ILR
R	0.93	0.47
R ²	0.86	0.22
R ² ajustada	0.82	-0.02
F	20.5	0.88
p	0	0.59

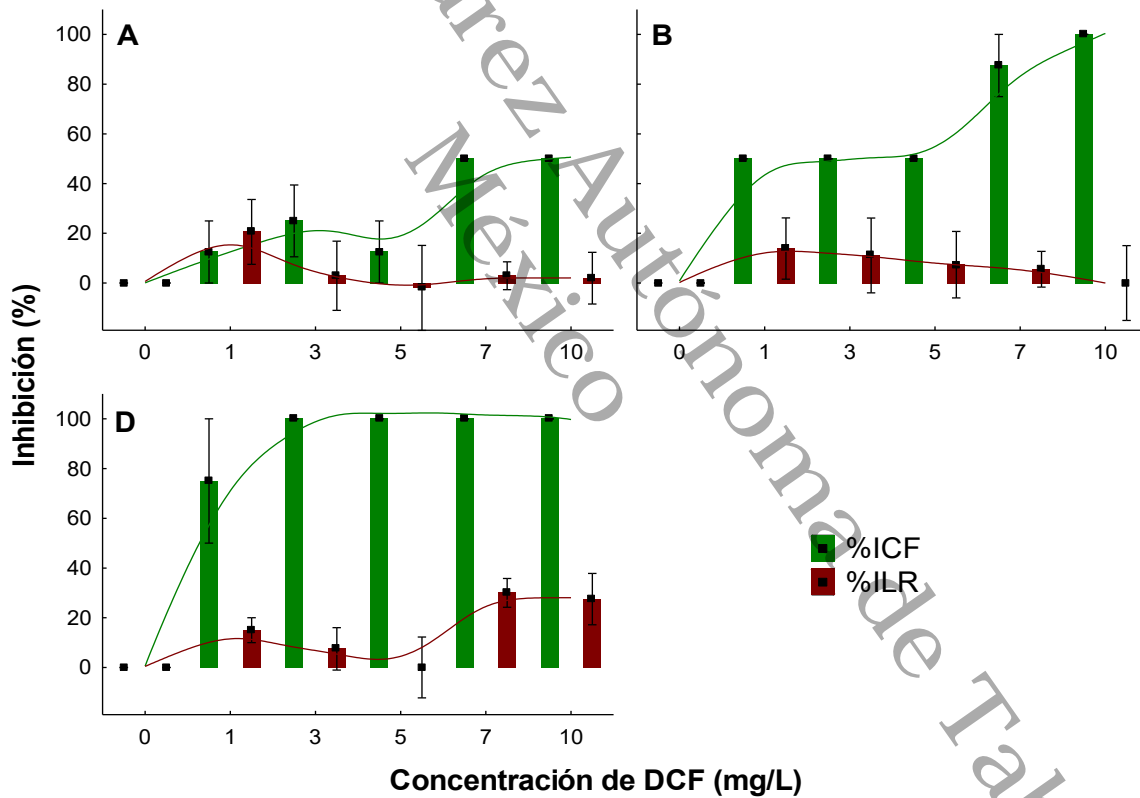


Figura 15. Curvas de inhibición de color foliar y longitud radicular en plántulas de *Typha domingensis* durante la exposición a Diclofenaco. Exposición del fármaco a uno (A), tres (C) y seis (D) días.

En contraste, los tratamientos ILR1d e ILR3d presentaron curvas de inhibición decrecientes, mientras que ILR6d exhibió inhibición asimétrica, lo que sugiere una mayor tolerancia o capacidad de compensación fisiológica en este parámetro. Es decir, ninguna de las curvas de ILR cumplió con comportamiento monótono creciente de la inhibición en función de la concentración y presencia de una transición definida entre una fase de baja inhibición y un régimen de inhibición elevada, tampoco cruzó el umbral del 50 % de inhibición dentro del rango experimental. Por lo tanto, la estimación de la IC₅₀ del grupo ILR por regresión Logit no resultó confiable, excepto por la ILR1 que formó parte del grupo de IC₅₀ de mayor potencia inhibitoria. El modelo ajustado de la regresión Logit de las seis variables dependientes, el resumen estadístico de los parámetros, la magnitud de la pendiente (β_1), coherencia biológica e incertidumbre por el tamaño muestral y la varianza se localizan en Anexo.

Tabla 10. Resumen de las concentraciones inhibitorias medias (IC₅₀) de color foliar y longitud radicular en plántulas de *Typha domingensis*.

Tratamiento	Tiempo	IC ₅₀ (mg/L)	χ^2	p-valor
ICF1d	1 día	4.12	13.33	0.00026
ICF3d	3 días	0.6	17.56	0.00003
ICF6d	6 días	0.8	19.67	0.00001
ILR1d	1 día	0.7	10.08	0.0015
ILR3d	3 días	4.92*	4.99	0.0255
ILR6d	6 días	—	—	—

*IC₅₀ con alta incertidumbre (pendiente marginal). Los valores CI50 se estimaron mediante ajuste de curvas dosis–respuesta.

8.2.2 Sintomatología tóxica – Evaluación II

En esta prueba, se observaron síntomas de clorosis, pérdida de turgencia y degradación de plántulas completas por DCF. Para efecto de comparación, los

cultivos de plantas *in vitro* del control (figura 16A) se muestran con aquellos de plantas con sintomatología tóxica. La pérdida parcial y total de la turgencia de hoja y raíz y la clorosis manifestada por individuo ocurrió en dosis de 7 mg/L y 10 mg/L (figura 16F y 16E). Con dosis de 10 mg/L, las plantas presentaron máxima clorosis y deshidratación de hojas y raíces, lo que provocó la degradación de estructuras vegetales.

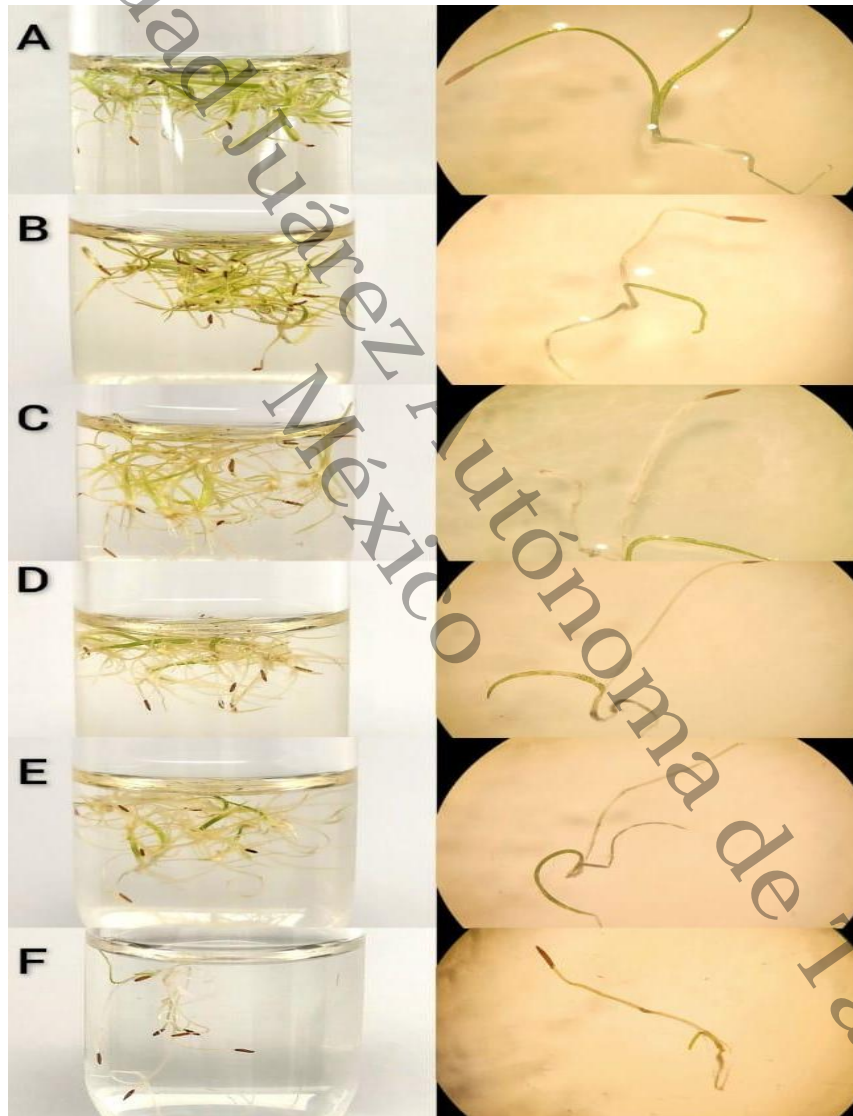


Figura 16. Severidad tóxica del Diclofenaco por el color foliar en las plántulas de *Typha domingensis* a los 15 días del experimento. A) control, B) 1 mg/L de DCF, C) 3 mg/L de DCF, D) 5 mg/L de DCF, E) 7 mg/L de DCF, F) 10 mg/L de DCF.

8.2.2.1 Variación del crecimiento de la biomasa

Con base en el crecimiento de la biomasa de las plántulas, el ajuste del modelo covariado de regresión lineal múltiple concentración-tiempo resultó altamente significativo ($p < 0.001$). Aunque los coeficientes R fueron adecuados, los valores bajos de R^2 y R^2 ajustado indicaron variabilidad alta en las estimaciones de la biomasa. Esta variabilidad se puede explicar por las diferencias genéticas y fisiológicas de cada individuo. El orden decreciente de magnitud significativa de los factores, directos e indirectos fue el tiempo de exposición ($p = 0.0001$), la interacción concentración-tiempo ($p = 0.01$) y finalmente la concentración de DCF ($p = 0.03$). Las dos primeras concentraciones de DCF mostraron tendencia al crecimiento más parecidas pero presentaron fases estacionarias más prolongadas a partir de los 5 mg/L, respecto al control ($p < 0.05$). En las dos últimas concentraciones la caída de la biomasa fue abrupta y seguida por una fase de recuperación menor en magnitud. La figura 17, ilustra los perfiles de crecimiento en biomasa por concentración de DCF.

En referencia a las curvas de inhibición-tiempo, las cinco concentraciones de DCF mostraron un patrón trifásico (figura 17) caracterizado por inhibición temprana (1-2 días), seguida de una fase de estimulación del crecimiento (3-4) y una inhibición tardía (4 o 7 días). Las estimulaciones fueron de mayor magnitud en 3, 5 y 7 mg/L. La tendencia de inhibición temprana hasta en 5 mg/L de DCF resultó más confiable debido a la fragilidad de los germinados por encima de esta concentración. En particular, en 10mg/L de DCF presentó el mayor descenso de la biomasa ($p < 0.05$).

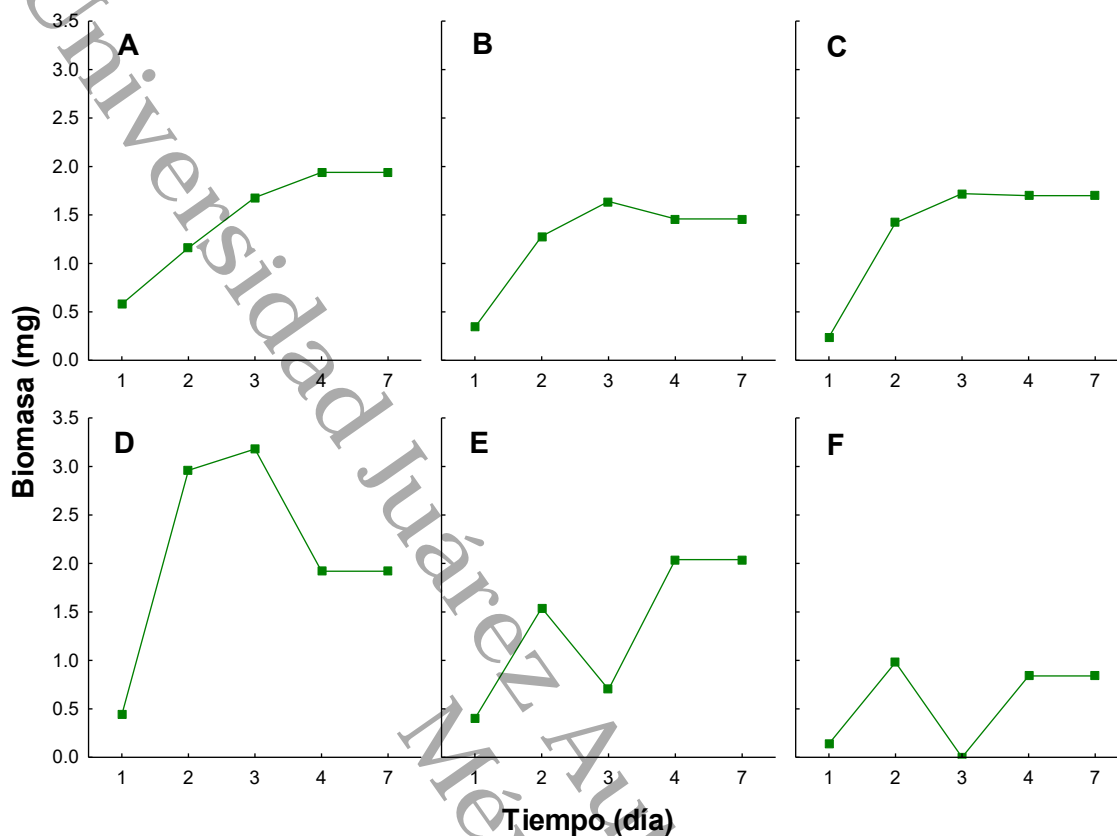


Figura 17. Crecimiento en biomasa de plántulas de *Typha domingensis* por el efecto del Diclofenaco. Control (A), 1 (B), 3 (C), 5 (D), 7 (E) y 10 (F) mg/L de DCF durante siete días.

8.2.2.2 Curvas concentración-Inhibición y CI_{50} de Diclofenaco

Debido a la naturaleza de las curvas concentración-inhibición de la biomasa (figura 18), no fue posible determinar un modelo logístico. En su lugar, se analizaron separadamente las fases inhibitorias. Las IC_{50} estimadas mediante regresión segmentada por tiempo de exposición variaron entre los tratamientos (tabla 11) y estas se ubicaron en el criterio de sensibilidad moderada ($\approx 10-20$ mg/L) y baja sensibilidad (> 40 mg/L).

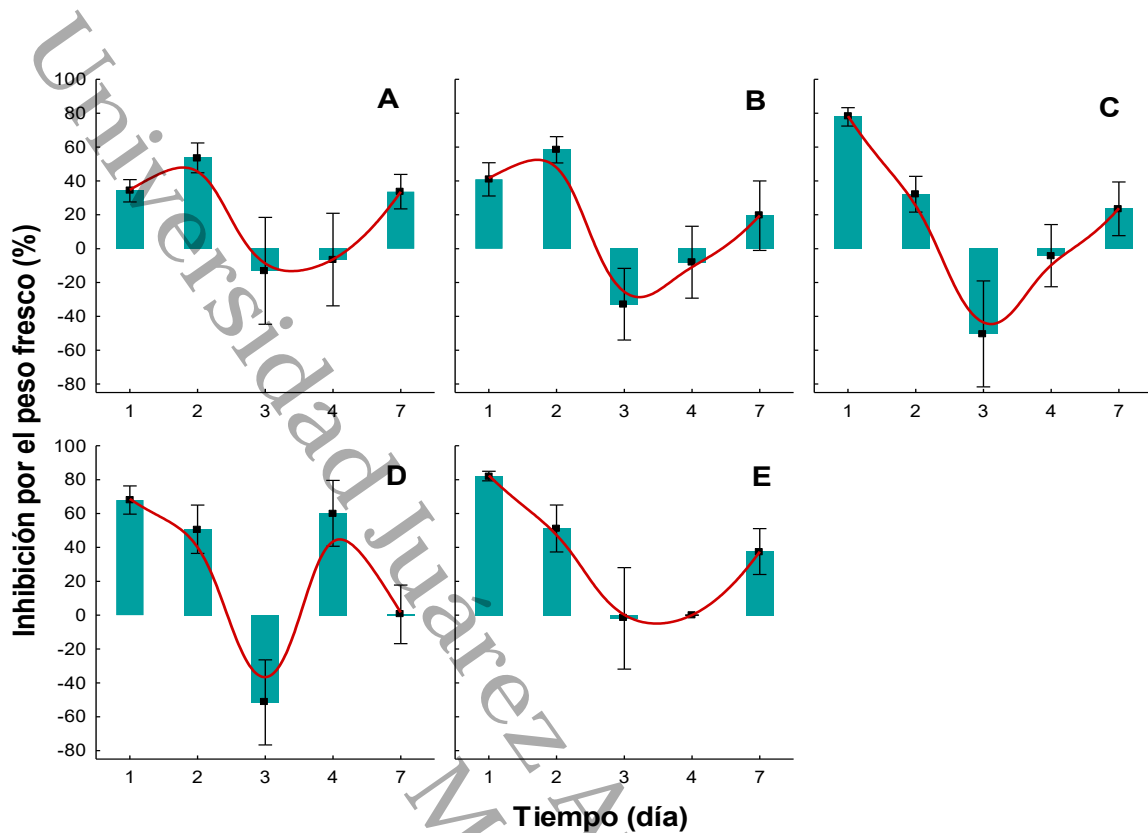


Figura 18. Inhibición del peso de la biomasa en plántulas de *Typha domingensis*. Exposición a concentraciones de 1 (A), 3 (B), 5 (C), 7 (D) y 10 (E) mg/L de DCF.

Las IB1d e IB2d presentaron una inhibición marcada, con IC_{50} bajas (7.6 y 9.6 mg/L), conformando el grupo de IBxd de mayor sensibilidad inhibitoria. IB3d mostró una respuesta de inhibición intermedia, que aumentó de forma continua con la concentración, sin descensos ni máximos múltiples, y cruzó el umbral del 50 % de inhibición una sola vez. La IC_{50} de 14 mg/L obtenida indica que en IB3d, se requieren concentraciones moderadas para alcanzar el 50 % de inhibición. En IB4d no fue posible definir una IC_{50} válida, ya que la respuesta tampoco alcanzó el 50 % de inhibición dentro del rango experimental, mientras que IB7d mostró una IC_{50} de sensibilidad baja con 45.3 mg/L, adjudicado a la pérdida de plántulas por estallamiento o fragilidad máxima.

Tabla 11. Concentración inhibitoria media (IC₅₀) estimada en la biomasa de plántulas de *Typha domingensis*. Modelo de regresión lineal segmentada para los distintos tratamientos de inhibición por día (IBxd).

Tratamiento	^a punto de quiebre (mg/L)	Tramo IC ₅₀	con ^b IC ₅₀ (mg/L)	Observaciones
IB1d	50.5	Tramo 1	7.6	Inhibición temprana; >50 % sostenida luego
IB2d	43.9	Tramo 1	9.6	Inhibición temprana marcada
IB3d	-25.8	Tramo único	14	Punto de quiebre fuera de rango
IB4d	8.3	—	—	No se alcanzó 50 % de inhibición válida
IB7d	20.5	Tramo 2	45.3	Inhibición tardía

^aRegresión segmentada, IC₅₀ válida solo si ocurre dentro del tramo correspondiente.

^bValores menores de IC₅₀ indican mayor potencia inhibitoria. Los valores IC₅₀ se estimaron mediante ajuste de curvas dosis–respuesta.

8.2.3 Sintomatología tóxica de plantas desarrolladas en oscuridad

La figura 19 evidencia la intensidad de la clorosis, necrosis radicular y la pérdida de turgencias de hoja y raíz por debido al DCF. La planta completa sin exposición al DCF fue turgente, presentó hojas muy verdes y raíces blancas. Estas características destacaron en el desarrollo de las hojas del control 1 (figura 19A), respecto al control 2 (figura 19D) que fue favorecido por la presencia de AIA/CIN. Un acercamiento al desarrollo foliar presentado en los dos controles se aprecia en la misma figura 18.

La toxicidad de DCF de menor intensidad se presentó en ausencia de AIA/CIN. Esta se manifestó con clorosis periférica o central en la categoría de hojas color verde opaco y algunas transparentes (figura 19G), deshidratación foliar parcial que tornó su color vivo a mate paja (figura 19H) y en la raíz por el ápice de la raíz semioscuro (figura 19I) y la deshidratación parcial de tejido radicular. En presencia de AIA/CIN todas estas manifestaciones de toxicidad del DCF se intensificaron, de acuerdo con las figuras 19K y 19L. Ningún tratamiento con DCF registró ruptura o daño vegetal, aunque cierta turbidez fue observada en algunos cultivos en presencia de fitorreguladores

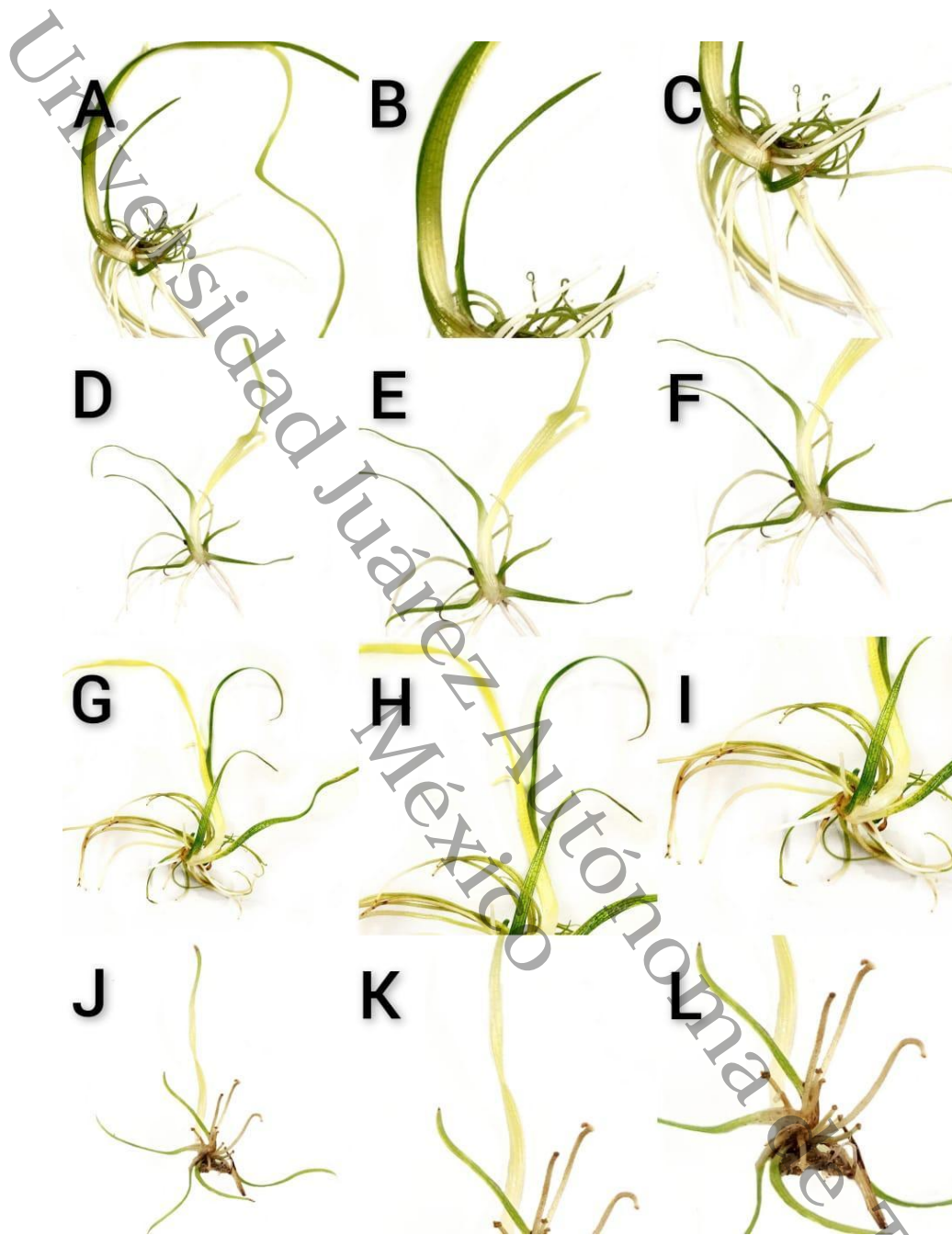


Figura 19. Manifestaciones de toxicidad del Diclofenaco en plantas desarrolladas de *Typha domingensis* a partir de raíces inducidas en 0.5MS. A) Control 1 (acercamiento B) hojas y C) raíces), D) control 2+AIA/CIN (acercamiento E) hojas y F) raíces), G) 7 mg/L de DCF (acercamiento H) clorosis y I) necrosis parcial de raíces), J) 7 mg/L de DCF+AIA/CIN (acercamientos K) clorosis, L) necrosis severa del tejido radicular).

8.2.3.1 Modelos de regresión unidos de la toxicidad de hojas y raíces en oscuridad.

Los modelos de regresión de los indicadores de color y turgencias de hojas y raíces fueron significativos. Los coeficientes R mostrados fueron de mayor magnitud para el color de hojas que para las turgencias de hoja y raíz (tabla 12). La variación de estas tres respuestas cambió significativamente en función del tiempo y entre tratamientos de DCF de forma directa e interactiva ($p < 0.05$). En los tres modelos, el número de plantas por unidad de cultivo mostró efectos covariados bajo oscuridad.

Aunque la cantidad de hojas y color de raíces por unidad de cultivo resultaron homogéneas ($p > 0.05$), es importante considerar el sesgo inherente a la contabilidad por la condición no destructiva de la prueba. No obstante, hubo una diferencia de cinco hojas a favor de la presencia de AIA/CIN, y con el DCF añadido conservaron el promedio de hojas del control respectivo.

Tabla 12. Coeficientes R de los indicadores de color y turgencia de hojas y raíces de plantas de *Typha domingensis* desarrolladas en oscuridad.

	R	R ²	R ² aj	F	p
No. hojas	0.68	0.47	0.08	1.22	0.37
Color hojas	0.98	0.96	0.93	31.90	0.001
Turgencia hojas	0.94	0.89	0.80	10.72	0.001
Color raíces	0.73	0.53	0.19	1.57	0.24
Turgencia raíz	0.94	0.88	0.79	10.17	0.001

8.3 Eficiencia de la remoción del Diclofenaco en los sistemas *in vitro*

8.3.1 Curva de calibración

La curva estándar utilizada para calcular la relación entre la concentración y señal de DCF mostró correlación positiva muy fuerte ($R=0.999$, $p=0.0001$), lo cual significa que en el modelo, el valor del intercepto no es producto del azar. Es decir, hay evidencia estadística suficiente para afirmar que el intercepto es distinto de cero. El modelo de regresión lineal explicó el 99.9 % de la variabilidad (R^2) y un buen ajuste de los datos ($R^2_{aj}=0.999$).

8.3.2 Eficiencia de la remoción de Diclofenaco en tiempo final

La remoción de DCF fue evaluada en las plántulas S1 y se observó un comportamiento concentración-dependiente. El modelo de regresión múltiple de la remoción en tiempo final de las plántulas mostró un ajuste altamente significativo y robusto ($p=0.0001$). En conjunto, la correlación positiva muy fuerte ($R=0.96$), determinación ($R^2=0.93$) y ajustado ($R^2_{aj}=0.89$), reflejan que el modelo es estadísticamente sólido y útil para explicar y predecir información relevante de la variable dependiente, con un margen de error aceptable y una variabilidad residual baja. Conforme a la figura 20, la remoción más baja (30 %) se registró con 1 mg/L, seguida por 3 mg/L (80 %) y continuaron los promedios compartidos de las remociones de 5 y 7 mg/L de DCF (88 %) ($p<0.05$).

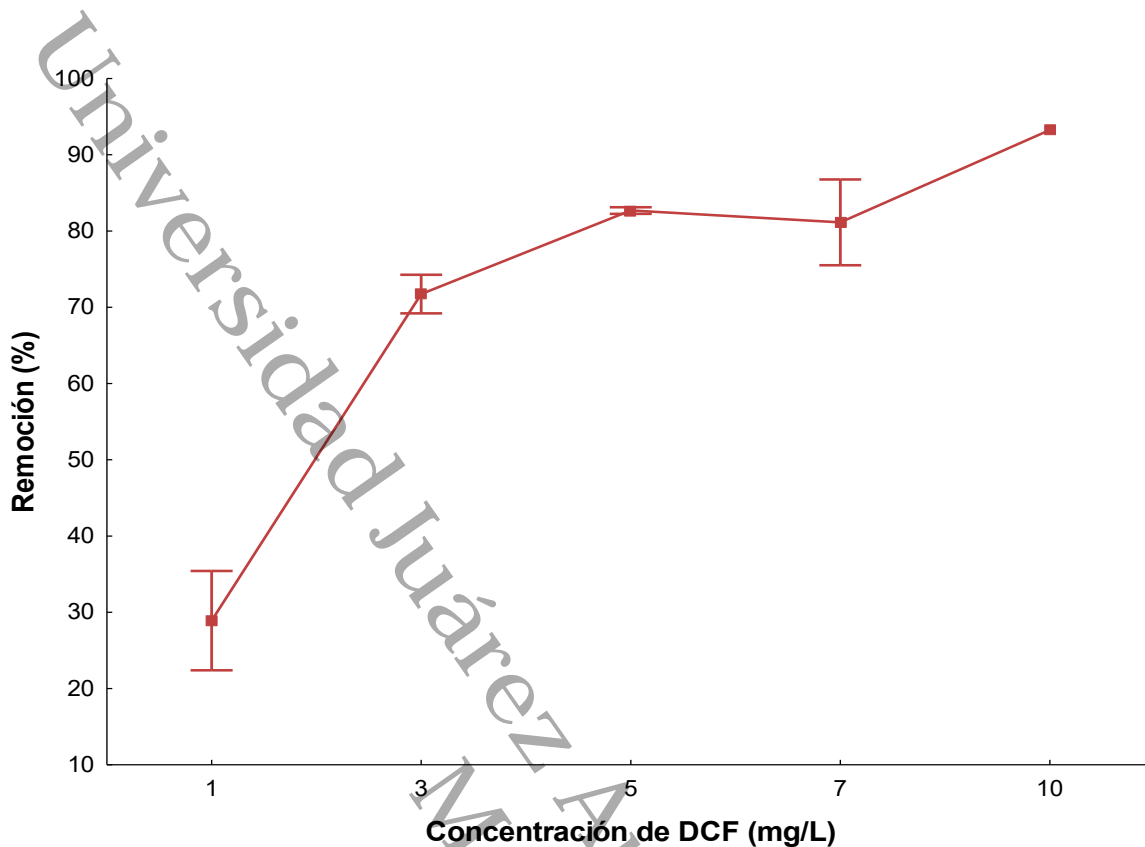


Figura 20. Remoción final de Diclofenaco agrupado por concentración en plántulas de *Typha domingensis*.

8.3.3 Eficiencia de la remoción del Diclofenaco en diferentes tiempos

El porcentaje y velocidad de remoción de DCF de las plántulas sujetas a toxicidad aguda fue dosis-tiempo dependiente ($p=0.0001$), siendo el ajuste de los modelos de regresión múltiple significativos ($p=0.001$), así como fueron elevados los coeficientes de correlación en los tres parámetros de R (tabla 10). Los efectos directos, la interacción de la concentración y tiempo de exposición a DCF presentaron $p<0.05$, sin embargo, la concentración influyó más que el tiempo en la eficiencia de la remoción en porcentaje y velocidad. Respecto al porcentaje de remoción, las cinco curvas concentración-tiempo mostraron tendencias exponenciales parecidas, conforme a la representación que se muestran en la figura

21. En cada tiempo evaluado la remoción incrementa de manera progresiva desde la concentración más baja a la más elevada, lo que indica que el sistema biológico remueve más DCF en concentraciones altas. Excepto, al inicio (1 día) donde la capacidad de remoción fue superior en todas las concentraciones sin presentar traslapamiento alguno entre curvas, como se evidencia en los días 2 a 7.

Para el caso de la velocidad de remoción, las cinco curvas tiempo-concentración fueron sigmoidales (figura 21). Es decir, la velocidad inicia lenta en todas las concentraciones, se estabiliza los días intermedios y aumenta rápidamente al séptimo día. Aunque por la magnitud de la velocidad fueron diferentes, siendo la concentración de 1 mg/g más rápida los primeros dos días y después se mantuvo estable a un máximo de velocidad de -0.5 mg/día. Al finalizar, las cinco concentraciones se acercaron a este valor de velocidad mostrando el mismo patrón de cambio de velocidad.

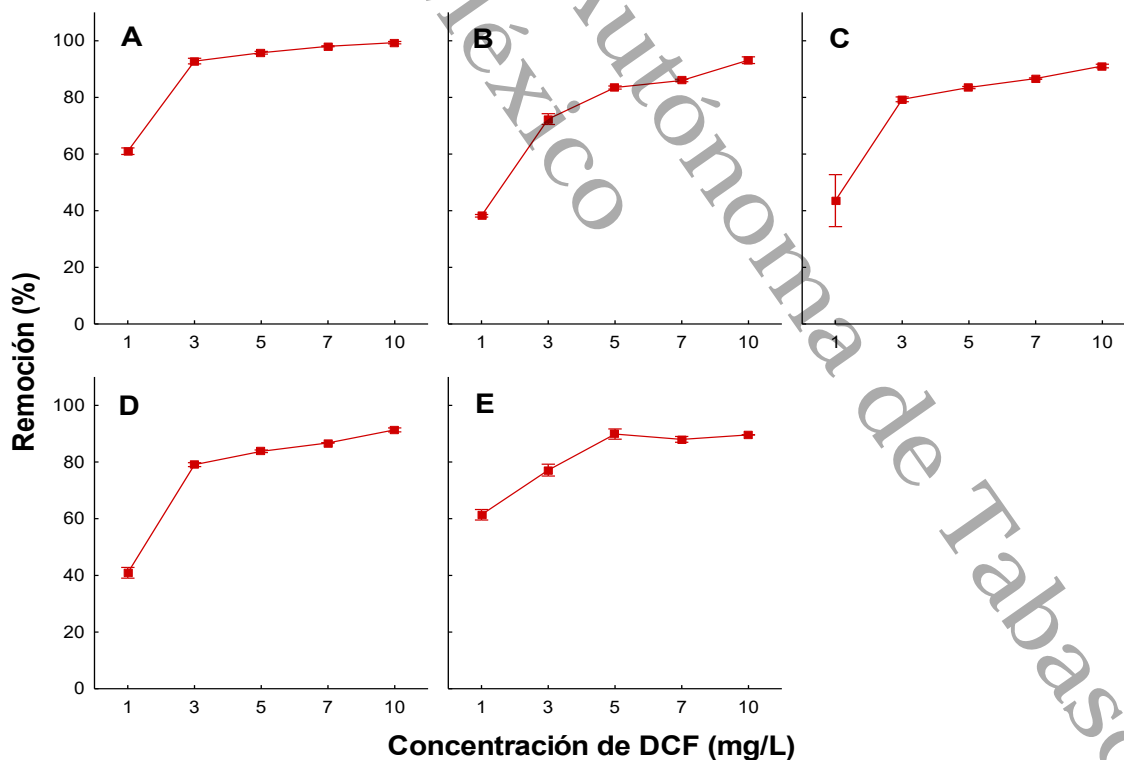


Figura 21. Remoción cinética de Diclofenaco. A) 1, B) 2 C) 3 D) 4 y E) 7 días.

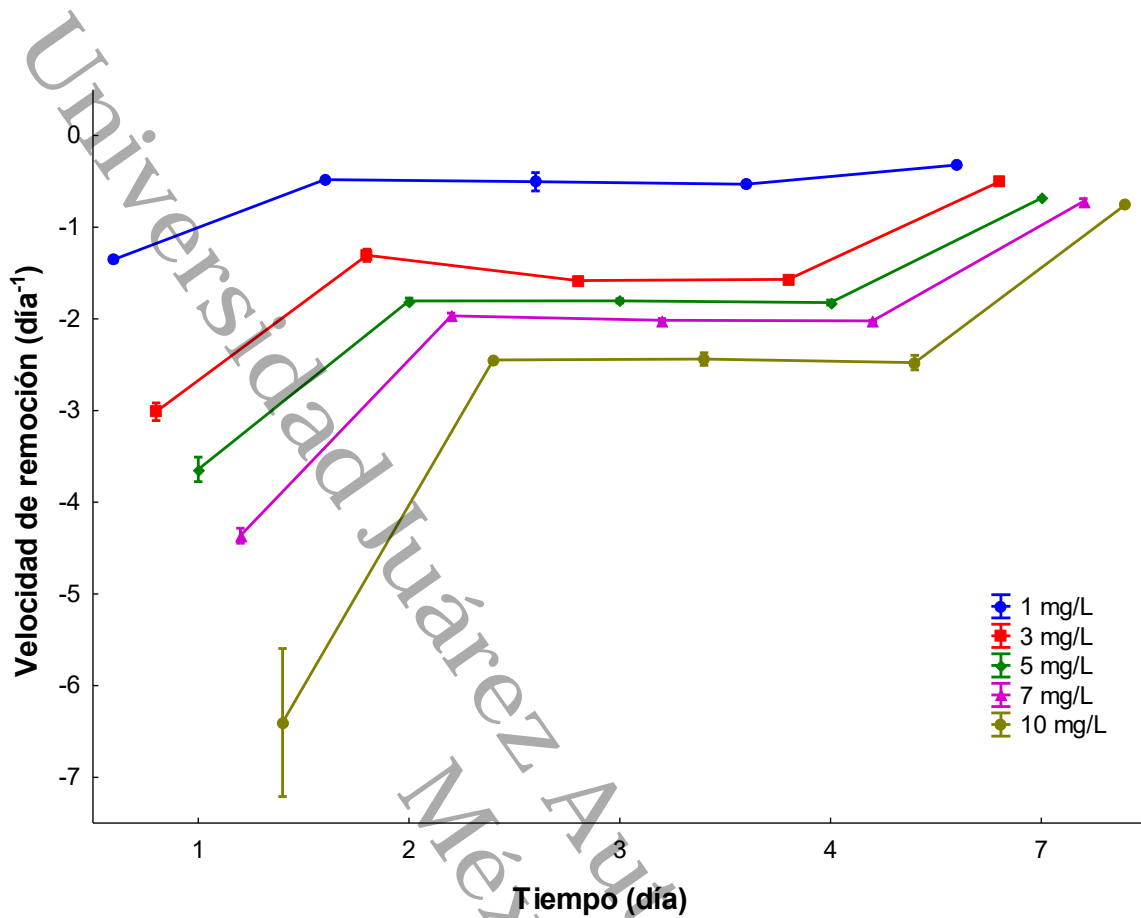


Figura 22. Velocidad de remoción del Diclofenaco.

Por otra parte, las curvas de velocidad de remoción mostraron un perfil de decaimiento exponencial (Figura 22), caracterizado por una tasa de cambio (-k) inicialmente alta que disminuye gradualmente. La concentración de 1 mg/L presentó la mayor velocidad de remoción en el primer día. Posteriormente, las concentraciones entre 3 y 10 mg/L mostraron una estabilidad en la tasa entre -1 y -3 día⁻¹, hasta que finalmente todas las concentraciones alcanzaron una velocidad asintótica cercana a -1 día⁻¹. Este último dato indica una capacidad de remoción constante de aproximadamente el 10 % de DCF en el séptimo día, demuestra una independencia de la concentración en la fase final. El porcentaje y velocidad de remoción de DCF de las plantas sujetas a toxicidad aguda fue dosis-tiempo dependiente ($p=0.0001$), siendo el ajuste de los modelos de regresión múltiple

significativos ($p=0.001$), así como fueron elevados los coeficientes de correlación en los tres parámetros de R (tabla 10). Los efectos directos, la interacción de la concentración y tiempo de exposición a DCF presentaron $p<0.05$, sin embargo, la concentración influyó más que el tiempo en la eficiencia de la remoción en porcentaje y velocidad.

Respecto al porcentaje de remoción, las cinco curvas concentración-tiempo mostraron tendencias exponenciales semejantes, conforme a la representación que se muestran en la figura 22. En cada tiempo evaluado la remoción incrementa de manera progresiva desde la concentración más baja a la más elevada, lo que indica que el sistema biológico remueve más eficientemente en concentraciones altas de DCF. Excepto, al inicio (día 1) donde la capacidad de remoción fue superior en todas las concentraciones sin presentar traslapamiento alguno entre curvas, como se evidencia en los días 2 a 7.

8.3.4 Eficiencia de la remoción en plantas desarrolladas en oscuridad

La remoción de DCF en las plantas desarrolladas con 0.5MS en oscuridad se ajustó al modelo de regresión concentración-dependiente (tabla 13). No obstante, la remoción fue afectada por el covariable número de plantas ($p<0.05$), y entre las condiciones de cultivo con y sin fitorreguladores, la remoción fue similar con un promedio del 27 %.

Tabla 13. Modelo de regresión concentración-dependiente de la remoción de Diclofenaco de plantas de *Typha domingensis* desarrolladas en oscuridad.

	R	R ²	R ² aj	F	p
%	0.99	0.99	0.99	31087.64	0.0001

9. DISCUSIÓN

La eficacia de eliminación y la toxicidad aguda del contaminante DCF por parte de la macrófita acuática *T. domingensis* se evaluó mediante bioensayos con dosis múltiples y únicas. Estos bioensayos se realizaron utilizando cultivos *in vitro* de plántulas y plantas adultas. El objetivo de este estudio fue doble: (i) establecer sistemas de evaluación *in vitro* para pruebas de fitorremediación y fitotoxicidad, y (ii) evaluar de manera simultánea los efectos tóxicos del DCF y la eficiencia de su remoción. La evaluación mediante el cultivo de raíces aisladas adultas procedente de raíces adventicias de campo se descartó, ya que el suministro resultó infructuoso.

En principio, las plantas locales mostraron ser donantes adecuados de semillas viables para establecer los cultivos *in vitro*. Un reto superado con éxito fue la elevada eficiencia regenerativa que mostraron las semillas de *Typha*, consistente con un abundante suministro de plántulas asépticas en medio de cultivo MS al 10 %. Este resultado fue consistente con lo reportado en investigaciones previas (Hernández, 2024; Hernández *et al.*, 2020, 2022). En consecuencia, el sistema de plántulas demostró ser adecuado para la evaluación toxicológica y fitorremediación. Respecto a los cultivos de raíces adventicias, cabe destacar que la mezcla de raíces verdes y blancas provenientes de campo mostró un alto grado de resistencia a la proliferación rizogénica, tanto en ausencia como en presencia de amonio. Además, estas raíces demostraron ser vulnerables a la infección y necrosis, y se comprobó que la inducción proliferativa autótrofa y heterótrofa con AIA, CIN y AIA/CIN fue ineficaz. El hallazgo de una respuesta de elongación positiva de la raíz blanca de campo en condiciones *in vitro*, coincidió con el desarrollo satisfactorio de raíces blancas de plantas procedentes de esplantes de raíces juveniles en el medio MS al 50 %. No obstante, la estandarización del cultivo *in vitro* de raíces aisladas de *T. domingensis* requiere investigaciones futuras en el contexto de la toxicología y la biotecnología vegetal con fines ecológicos.

Independientemente de la duración del bioensayo, las plántulas de *T. domingensis* mostraron los siguientes indicadores de daño tóxico por exposición a DCF: clorosis y pérdida de peso. La gravedad de estos síntomas aumentó con el tiempo de exposición. En contraste, la longitud de las raíces mostró un menor grado de sensibilidad en todos los casos. Una explicación de las diferencias entre hojas y raíces correlaciona con el metabolismo del DCF, es el documentado por Bartha *et al.* (2014) con *T. latifolia*, quienes reportan en el primer día de exposición menor proporción de DCF en las raíces y mayor en las hojas, que coincidió con la detección de 4'-OH-Diclofenaco, un producto de la hidroxilación de fase I transferido del tejido radicular a las hojas. Los autores interpretaron este hallazgo como un transporte moderado de DCF a la parte superior de la planta y una menor actividad metabólica en las hojas. Por lo tanto, se puede inferir que las plántulas de *T. domingensis* absorbieron y translocaron este fármaco, lo que aumentó el efecto tóxico en las hojas, especialmente a concentraciones de 7 y 10 mg/L.

En contraste con la toxicidad del DCF bajo la influencia de la iluminación en las plántulas y en ausencia de luz en plantas desarrolladas, los síntomas de necrosis radicular en plantas de edad avanzada fueron intensos en la dosis única de 7 mg/L tras una semana de exposición, sin que se produjera mortandad alguna.. Sin embargo, la amplificación de este efecto en presencia de AIA/CIN ocurrió de forma análoga a la necrosis ocurrida con el cultivo de raíces de campo que condujo a su mortandad. Si bien, la sinergia de estos fitorreguladores promovió el crecimiento del sistema radicular de las plantas, causaron daño colateral. En concordancia con esto, las hojas y raíces de plantas de *T. domingensis* presentaron mayor resistencia que las de plántulas al efecto tóxico residual del DCF. La combinación de barreras físicas más desarrolladas y una mayor capacidad metabólica de detoxificación confiere a las plantas adultas una mayor tolerancia al DCF en comparación con las plántulas.

Un hallazgo particular en la segunda evaluación de la toxicidad se presentó en la ganancia en la biomasa durante la exposición a diferentes concentraciones de DCF. Este proceso el cual se denomina hormesis, es un fenómeno de dosis-respuesta

que se caracteriza por la estimulación en dosis bajas y la inhibición en dosis altas (Calabrese & Blain, 2009). En este caso, fueron las concentraciones de 5 y 7 mg/L de DCF las que tuvieron la hormesis más marcada. La hormesis se ha reportado principalmente con antibióticos como la flumequina, quinolona, sulfadimetoxina, amoxicilina, tetraciclinas, ampicilina y sulfadiazina. Las especies de plantas usadas para estas pruebas son *Brassica napus*, *Capsella bursa-pastoris*, *Triticum aestivum*, *Zea mays*, *Lythrum salicaria*, *Cucumis sativus*, *Lactuca sativa* y *Raphanus sativus* (Agathokleous *et al.*, 2018). La capacidad de crecimiento sostenido sugiere que los mecanismos de detoxificación operan antes de comprometer el desarrollo estructural de la planta. Sin embargo, aún son escasas las investigaciones con respecto a la hormesis con AINEs, y particularmente el DCF, así como el comportamiento en especies del género *Typha* en pruebas de toxicidad agudas y crónicas. Los resultados obtenidos permiten comprender la respuesta fisiológica de *Typha* al DCF en un gradiente de concentraciones relevantes para ambientes urbanos.

El parámetro más sensible al DCF fue la intensidad del color foliar verde, cuyos CI_{50} se ubicaron en concentraciones bajas dentro del rango experimental. Este resultado es consistente con evidencia previa que señala que los pigmentos fotosintéticos son uno de los primeros blancos de estrés por fármacos antiinflamatorios en plantas acuáticas (Bartha *et al.*, 2014). La pérdida de coloración observada en *Typha* refleja probablemente una reducción de clorofilas o una alteración en la integridad de los tilacoides. Los AINEs como el DCF pueden inducir estrés oxidativo, interferir con la formación de cloroplastos y alterar la expresión de genes asociados a la fotosíntesis, incluso a niveles de exposición subletales. El CI_{50} estimado del porcentaje de color foliar se ubicó en el rango bajo-medio de las concentraciones experimentales, lo que sugiere que el pigmento foliar es uno de los primeros parámetros en responder al estrés inducido por el fármaco. Adicionalmente, las curvas de inhibición de la biomasa-tiempo obtenidas evidencian que el fármaco induce un estrés inicial, seguido de una respuesta adaptativa transitoria y, finalmente, un efecto inhibitorio

predominante. Por lo tanto, el efecto del fármaco no fue estático, sino dependiente del tiempo y este comportamiento resalta la complejidad de las interacciones DCF-célula y subraya la importancia de realizar análisis cinéticos prolongados para una caracterización adecuada de la actividad farmacológica. En conjunto, los valores de Cl_{50} , obtenidos de los modelos de regresión logísticos y segmentados (Anexo) y los patrones diferenciales de inhibición confirman que esta macrófita posee una tolerancia relativamente alta a este fármaco, aunque con afectaciones a nivel foliar y radicular, así como en la biomasa total. En este sentido, el presente estudio aporta evidencia que sugiere un sistema biológico dinámico, caracterizado por la coexistencia de toxicidad, adaptación y daño acumulativo inducidos por DCF, procesos que hasta ahora no han sido plenamente documentados.

En condición de toxicidad, las plántulas de *T. domingensis* demostraron que la concentración y la temporalidad ejercen influencias determinantes en la remoción de DCF. Particularmente, el sistema presentó una relación inversa entre carga del contaminante y eficiencia cinética de remoción. Este comportamiento sugiere que el sistema biológico posee una capacidad limitada de procesamiento del DCF. Cuando la concentración es alta, los mecanismos involucrados en su transformación, degradación o acumulación pueden operar de manera deficiente. Una explicación plausible es que al aumentar la concentración se saturan los sitios de interacción o transporte, se inhiben enzimas o rutas metabólicas y aumenta el estrés celular, reduciendo la actividad metabólica general. Como consecuencia, la velocidad de remoción disminuye. Desde un punto de vista cinético, este patrón es compatible con un sistema de tipo saturable, similar a una cinética de Michaelis-Menten, donde a bajas concentraciones, la velocidad aumenta proporcionalmente y a concentraciones altas tiende a estabilizarse o incluso disminuir si existe inhibición por sustrato. Lo anterior implica que el sistema es más eficiente para remover DCF a concentraciones bajas o moderadas, mientras que cargas elevadas pueden comprometer su desempeño. Por lo tanto, para aplicaciones ambientales, sería

conveniente operar dentro de rangos de concentración que no generen toxicidad significativa.

Aparentemente, el cambio sigmoideal de la velocidad en prácticamente todas las remociones de DCF sugiere la operación de mecanismos de detoxificación, que coinciden parcialmente con la absorción y la translocación del DCF en plantas de *T. latifolia* (Bartha *et al.*, 2014). En particular, este aspecto de la remoción por parte de *T. domingensis* en función de la velocidad parece guardar relación con las tres fases de la biotransformación de tóxicos en las plantas, concepto denominado hígado verde (Sandermann, 1994). Las principales enzimas implicadas en estos procesos son el citocromo P450, las monooxigenasas, las glutatión-S-transferasas, las glicosiltransferasas y las peroxidasas (Bartha *et al.*, 2014). Los niveles detectables de DCF y de sus metabolitos en los cultivos hidróponicos de *Arabidopsis thaliana* han confirmado el éxito de la absorción y el metabolismo del DCF en el sistema vegetal (Pan *et al.*, 2024).

Por otra parte, los efectos agudos y crónicos de los productos activos de la degradación de DCF merecen una atención cautelosa. Como se ha comprobado en investigaciones previas, la fotodegradación directa es el proceso de descomposición dominante de este fármaco (Musa & Eriksson, 2009; Poirier-Larabie *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2011). La fotólisis genera amidas cíclicas potencialmente tóxicas en aguas naturales y determinadas condiciones químicas, de profundidad y estacionales (Mathon *et al.*, 2019) y estas actúan como intermediarios en la fototransformación directa del DCF. Por lo anterior, en el presente estudio se anticipaba una menor remoción en oscuridad en comparación con la remoción en luz. Si bien, el propósito principal de la prueba fue evaluar la remoción y la toxicidad de DCF, en estado de desarrollo avanzado de *Typha* y discriminar posibles interferencias en la detección espectrofotométrica del fármaco en cuestión, se logró obtener evidencia de la reducida remoción en 7 mg/L bajo oscuridad. , además Una explicación plausible de la remoción con interferencias en este contexto experimental pudo ser causado por la mayor concentración de sales

de los medios de cultivo (50 % MS/plantas frente a 10 % MS/plántulas). Las moléculas fotoactivas, aquellas que poseen la capacidad de absorber radiación solar como el nitrato, se encuentran implicadas en el proceso de fototransformación indirecta de una amplia gama de contaminantes orgánicos en aguas superficiales. En relación con este aspecto, no existe mención en los sistemas de cultivo *in vitro*. En el marco de la eficacia de eliminación del DCF, las plántulas *in vitro* en condición de luminosidad alcanzaron eficiencia máxima del 80 %. Aunque se asume la misma variabilidad genética y fisiológica de los regenerantes, existieron algunas diferencias en las condiciones de estrés de los cultivos *in vitro* antes y después de la exposición al tóxico. Por ejemplo, en la primera prueba de remoción con plántulas, el periodo de aclimatación de estas fue más prologado y hubo un cambio no previsto del suministro de luz artificial por la ambiental. En la segunda evaluación, las plántulas de *T. domingensis* exhibieron una capacidad de remoción notable, alcanzando entre el 30 % y el 60 % en concentraciones de 1 mg/L. Posteriormente, dicha capacidad se incrementó de manera sustancial, sobrepasando el 70 % en concentraciones de 3 a 10 mg/L en días posteriores, lo que sugiere una mejora continua en la eficacia de la remoción con el tiempo. En similitud, Zapata-Morales *et al.* (2020), emplearon a *T. latifolia* y reportaron una eficiencia del 92 % en la eliminación de 1 mg/L en un período de tres días bajo condiciones de invernadero y una reducción en la eficacia a cinco días, alcanzando un máximo del 90 % en concentraciones de 3 mg/L. En oposición, revelaron disminución progresiva en la eficiencia, con una caída del 71 % al 43 % en concentraciones de 5, 7 y 10 mg/L, respectivamente. En otro estudio, se utilizaron plantas de *T. angustifolia* para remover once fármacos, entre ellos el DCF, con una concentración de 8 µg/L y con influencia de la temperatura (10 y 21.5°C). Los resultados indican que a los 21 días *T. angustifolia* pudo remover satisfactoriamente todos los compuestos farmacéuticos, en donde el DCF tuvo un porcentaje de remoción del 96±2 % a 10°C y 100 % a 21.5°C (Lei *et al.*, 2023).

En este estudio, la mayor eficiencia de eliminación del DCF observada en plántulas *in vitro* bajo condiciones de luminosidad en comparación con plantas en oscuridad

puede explicarse por varios factores (Polińska *et al.*, 2021). En primer lugar, las plántulas presentan una mayor actividad metabólica y tasas de crecimiento, lo que favorece la captura y el procesamiento de compuestos orgánicos disueltos en el medio. Además, el hecho de que los tejidos juveniles estén menos lignificados tengan una mayor relación superficie/biomasa permite una interacción más eficaz con el contaminante, facilitando su absorción inicial y su posterior metabolización. Asimismo, la luz puede estimular procesos fisiológicos y metabólicos relacionados con el gasto energético y la producción de metabolitos secundarios implicados en rutas de detoxificación, lo que contribuye a una eliminación más eficiente en plántulas *in vitro*. Estos mecanismos combinados, como captación activa, metabolismo acelerado y respuesta fisiológica inducida por la luz ofrecen una base funcional para comprender por qué las plántulas jóvenes pueden mostrar una mayor eficiencia en la remoción de DCF en comparación con plantas maduras, cuyas estructuras más complejas pueden limitar la cinética de absorción y transformación de xenobióticos.

Finalmente, también se plantea que el proceso de fitorremediación del DCF puede verse complementado por una interacción sinérgica entre la planta y microorganismos (Zapata-Morales *et al.*, 2024), lo que sugiere la colaboración conjunta a la mejora del medio ambiente. Cabe enfatizar que la condición reduccionista usada en el presente estudio separó el proceso vegetal del microbiano.

10. CONCLUSIÓN

En el presente estudio se delimitaron los umbrales de toxicidad aguda y de crecimiento en biomasa de *T. domingensis* ante la exposición a Diclofenaco, mediante la evaluación de plántulas en régimen de iluminación. En el contexto ambiental específico, las plántulas exhibieron una notable eficacia en la eliminación del fármaco en el medio de cultivo. En particular, la relación inversa observada entre la concentración inicial de DCF y la velocidad de remoción sugiere que, ante cargas elevadas, los mecanismos fisiológicos responsables de su eliminación pueden saturarse, reduciendo la eficiencia del proceso.

En contraste, las plantas expuestas a DCF en condiciones de oscuridad exhibieron un incremento en los síntomas de toxicidad, particularmente a nivel radicular, acompañado de una disminución en su capacidad de remoción del contaminante. Este fenómeno fisiológico sugiere que la disminución de la actividad metabólica asociada a la ausencia de luz puede limitar la tolerancia fisiológica de la planta frente al estrés inducido por el tóxico.

En conjunto, los resultados obtenidos indican que los sistemas de cultivo *in vitro* con plántulas en condiciones controladas constituyen un modelo experimental de utilidad para profundizar en la interacción entre toxicidad y remoción de contaminantes emergentes. Además, los resultados respaldan la tolerancia de *T. domingensis* a exposiciones agudas de DCF y destacan su potencial como modelo biotecnológico para el desarrollo de estrategias de fitorremediación frente a este contaminante, considerando los límites fisiológicos de tolerancia de la especie.

11. RECOMENDACIONES

Es necesario establecer de manera exitosa el cultivo *in vitro* de raíces asiladas, debido a la elevada carga microbiana para ello se recomienda diseñar un protocolo reproducible y eficiente que combine la limpieza física, tratamientos químicos secuenciales y antibióticos preventivos.

Por otra parte, para reforzar las pruebas toxicológicas se recomienda usar de pigmentos fotosintéticos como biomarcadores para superar la subjetividad asociada al color foliar, que proporcione una medida sensible y reproducible de la respuesta fisiológica al DCF, particularmente en los procesos relacionados con la captura de luz y la fotoprotección. De igual forma, los métodos analíticos basados en respuestas metabólicas de la planta (metabolómica dirigida HPLC–DAD o LC–MS/MS) pueden usarse para proporcionar evidencia integrada de procesos de atenuación y adaptación fisiológica de *T. domingensis*.

En cuanto a la fitorremediación, es preciso no prescindir de técnicas avanzadas para identificar los productos de degradación del DCF dentro *T. domingensis*, para asegurar que el proceso de fitorremediación no genere subproductos de mayor toxicidad.

12. LITERATURA CITADA

- Agathokleous, E., Kitao, M., & Calabrese, E. J. (2018). Human and veterinary antibiotics induce hormesis in plants: Scientific and regulatory issues and an environmental perspective. *Environment International*, 120, 489–495. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.035>
- Akhtar, N., Hameed, M., Nawaz, F., Ahmad, K. S., Hamid, A., Segovia-Salcedo, C., & Shahnaz, M. M. (2017). Leaf anatomical and biochemical adaptations in *Typha domingensis* Pers. ecotypes for salinity tolerance. *Botanical Sciences*, 95(4), 807–821. <https://doi.org/10.17129/botsci.886>
- Alcantara-Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*, 17(32), 109–129. <https://doi.org/10.22490/24629448.3639>
- Amos-Sibeko, P., Naicker, D., Mdluli, P. S., & Madikizela, L. M. (2019). Naproxen, ibuprofen, and diclofenac residues in river water, sediments and *Eichhornia crassipes* of Mbokodweni river in South Africa: An initial screening. *Environmental Forensics*, 20(2), 129–138. <https://doi.org/10.1080/15275922.2019.1597780>
- Arman, N. Z., Salmiati, S., Aris, A., Salim, M. R., Nazifa, T. H., Muhamad, M. S., & Marpongahtun, M. (2021). A review on emerging pollutants in the water environment: Existences, health effects and treatment processes. *Water (Switzerland)*, 13(22), 1–31. <https://doi.org/10.3390/w13223258>
- Ávila, C., Pedescoll, A., Matamoros, V., Bayona, J., & García, J. (2020). Capacidad de un sistema de humedal construido con flujo subterráneo horizontal para la eliminación de contaminantes emergentes: un experimento de inyección. *Chemosphere*, 81(9), 1137–1142. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.006>

- Baldwin, B., & Cannon, A. (2007). *Typha* review. Universidad Estatal de Utah. https://files.cfc.umt.edu/cesu/NPS/USU/2006/06Baldwin_GRKO_Typha_review_frpt.pdf
- Bartha, B., Huber, C., & Schröder, P. (2014). Uptake and metabolism of diclofenac in *Typha latifolia* - How plants cope with human pharmaceutical pollution. *Plant Science*, 227, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.06.001>
- Banco de medicamentos en línea (13 de junio de 2005). Diclofenaco. Recuperado el 3 de marzo de 2024 de <https://go.drugbank.com/drugs/DB00586>
- Brix, H., Dyhr-Jensen, K., & Lorenzen, B. (2002). Root-zone acidity and nitrogen source affects *Typha latifolia* L. growth and uptake kinetics of ammonium and nitrate. *Journal of Experimental Botany*, 53(379), 2441–2450. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf106>
- Calabrese, E. J., & Blain, R. B. (2009). Hormesis and plant biology. *Environmental Pollution*, 157(1), 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.07.028>
- Carvalho, P. N., Basto, M. C., Almeida, C. M., & Brix, H. (2014). A review of plant–pharmaceutical interactions: from uptake and effects in crop plants to phytoremediation in constructed wetlands. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 11729–11763. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2550-3>
- Castro-Pastrana, L. I., Cerro-López, M., Toledo-Wall, M. L., Gómez-Oliván, L. M., & Saldívar-Santiago, M. D. (2021). Análisis de fármacos en aguas residuales de tres hospitales de la ciudad de Puebla, México. *Ingeniería Del Agua*, 25(1), 59. <https://doi.org/10.4995/ia.2021.13660>
- Chan-Quijano, J. G., & Rivera-Guzmán, N. E. (2017). Contribución al inventario de la vegetación acuática y ribereña de Tabasco, México. *Desde El Herbario CICY*, 9, 98–104. <https://www.researchgate.net/publication/317283971>
- Cho, M., & Kim, K. (2021). Diclofenac modified the root system architecture of *Arabidopsis* via interfering with the hormonal activities of auxin. *Journal of*

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125402>

CNIB-Centro Nacional de Información Biotecnológica. (2024). Resumen de compuestos de PubChem para CID 3033, Diclofenaco. Recuperado el 24 de agosto de 2024 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac>

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. (2009). Malezas de México. *Typha domingensis* Pers. Espadaña Tropical. Recuperado el 10 de septiembre de 2024 de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/typhaceae/typha-domingensis/fichas/ficha.htm>

Compaoré, W. F., Dumoulin, A., & Rousseau, D. P. L. (2020). Metal uptake by spontaneously grown *Typha domingensis* and introduced *Chrysopogon zizanioides* in a constructed wetland treating gold mine tailing storage facility seepage. *Ecological Engineering*, 158(106037). <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.106037>

Contreras-Carvajal, A. (2015). Diclofenaco En Especies Salvajes: Situación Actual [Universidad de Extremadura]. https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/4430/1/TFGUEx_2016_Contreras_Carvajal.pdf

Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R., & Acevedo-Sandoval, O. (2011). Phytoremediation: An alternative to eliminate pollution. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(2), 597–612.

Doran, P. M. (2009). Application of plant tissue cultures in phytoremediation research: Incentives and limitations. *Biotechnology and Bioengineering*, 103(1), 60–76. <https://doi.org/10.1002/bit.22280>

Dordio, A., Ferro, R., Teixeira, D., Palace, A. J., Pinto, A. P., & Dias, C. M. B. (2011).

- Study on the use of *Typha* spp. for the phytotreatment of water contaminated with ibuprofen. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 91(7–8), 654–667. <https://doi.org/10.1080/1003067311003782708>.
- Dordio, Ana V., Duarte, C., Barreiros, M., Carvalho, A. J. P., Pinto, A. P., & da Costa, C. T. (2009). Toxicity and removal efficiency of pharmaceutical metabolite clofibrac acid by *Typha* spp. - Potential use for phytoremediation? *Bioresource Technology*, 100, 1156–1161. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.08.034>
- Félix-Cañedo, T. E., Durán-Álvarez, J. C., & Jiménez-Cisneros, B. (2013). The occurrence and distribution of a group of organic micropollutants in Mexico City's water sources. *Science of the Total Environment*, 454–455, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.088>
- Fernandes, J. P., Almeida, C. M. R., Salgado, M. A., Carvalho, M. F., & Mucha, A. P. (2021). Pharmaceutical Compounds in Aquatic Environments — Occurrence, Fate and Bioremediation Prospective. *Toxics*, 9(257), 1–26.
- Farraji, H., Robinson, B., Mohajeri, P., & Abedi, T. (2020). Phytoremediation: green technology for improving aquatic and terrestrial environments. *Nippon Journal of Environmental Science*, 1(1). <https://doi.org/10.46266/njes.1002>
- Ferrari, B., Paxe'us, N., Lo Giudice, R., Pollio, A., & Garric, J. (2003). Impacto ecotoxicológico de los productos farmacéuticos presentes en las aguas residuales tratadas: estudio de la carbamazepina, el ácido clofíbrico y el Diclofenaco. *Ecotoxicología y Seguridad Medioambiental*, 55, 359–370.
- Flynn, D. O., Lawler, J., Yusuf, A., Parle-mcdermott, A., Harold, D., Cloughlin, M., & Holland, L. (2021). Analytical Methods A review of pharmaceutical occurrence and pathways in the aquatic environment in the context of a changing climate and the COVID-19 pandemic. *The Royal Society Of Chemistry*, 13, 575–594. <https://doi.org/10.1039/d0ay02098b>
- Gahlawat, S., & Gauba, P. (2016). Phytoremediation of aspirin and tetracycline by

- Brassica juncea. *International Journal of Phytoremediation*, 18(9), 929–935.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1131230>
- García-Alcalde, M., Minaya, D., Alvariño, L., Iannaccone, J., & Rodríguez, A. (2023). Ecotoxicological tests to evaluate antibiotics and ansiolytics in the aquatic environment. *Produccion + Limpia*, 18(1), 64–84.
<https://doi.org/10.22507/pml.v18n1a5>
- García-Rodríguez, A., Matamoros, V., Fontàs, C., & Salvadó, V. (2015). The influence of *Lemna* sp. and *Spirogyra* sp. on the removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in treated wastewaters. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12, 2327–2338.
<https://doi.org/10.1007/s13762-014-0632-x>
- García-Zamora, J. L., Moreira, M. T., García-Díaz, E., & Torres, E. (2025). Ecological Risk Assessment in Nexapa River by Pharmaceutical Compounds Related to COVID-19. *Water Air Soil Pollution*, 236(441), 1–12.
<https://doi.org/10.1007/s11270-025-08064-1>
- González, F., Villén-Molina, E., López, I., Moraleda, V., Suárez, L., Waxman, S., & Rodríguez, C. (2023). Residuos medicamentosos de Diclofenaco y su impacto en los buitres del género Gyps. *Sociedad Española de Farmacología*, 21(2), 106–120. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/240241>
- Gujarathi, N., Haney, B., Park, H., Wickramasinghe, S., & Linden, J. (2005). Hairy Roots of *Helianthus annuus*: A Model System to Study Phytoremediation of Tetracycline and Oxytetracycline. *Biotechnology Progress*, 21(3), 775–780.
<https://doi.org/10.1021/bp0496225>
- Gwenzi, W., Selvasembian, R., Offiong, N. A. O., Mahmoud, A. E. D., Sanganyado, E., & Mal, J. (2022). COVID-19 drugs in aquatic systems: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 20, 1275–1294.
<https://doi.org/10.1007/s10311-021-01356-y>

- He, Y., Sutton, N., Lwi, Y., Rijnaarts, H., & Langenhoff, A. (2018). Fate and distribution of pharmaceutically active compounds in mesocosm constructed wetlands. *Journal of Hazardous Materials*, 357, 198–206. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.05.035>
- Hernández, E., Castañeda, M., Linares, I., Almazán, P., Vázquez, G., & Martínez, V. (2021). Tratamiento del Diclofenaco en solución acuosa mediante electro-oxidación utilizando electrodos de DDB. *Tecnologías y Ciencias Del Agua*, 4(12), 335–383. <https://doi.org/10.24850/j-tyca-2021-04-08>
- Hernández-Piedra, G., Ruiz-Carrera, V., Sánchez, A. J., Hernández-Franyutti, A., & Azpeitia-Morales, A. (2018). Morpho-histological development of the somatic embryos of *Typha domingensis*. *PeerJ*, 1–17. <https://doi.org/10.7717/peerj.5952>
- Hernández-Piedra, G., Ruiz-Carrera, V., Sánchez, A. J., Azpeitia-Morales, A., & Calva-Calva, G. (2020). Induction of hairy roots on somatic embryos of rhizoclones from *Typha domingensis* seedlings. *Plants*, 9(12), 1–12. <https://doi.org/10.3390/plants9121679>
- Hernández-Piedra, G., Ruiz-Carrera, V., Sánchez, A. J., Escalante-Espinosa, E., & Calva-Calva, G. (2025). Spatial–Temporal Dynamics of Adventitious Roots of *Typha domingensis* Pers. Seedlings Grown with Auxin/Cytokinin. *Life*, 15(1), 1–18. <https://doi.org/10.3390/life15010121>
- Iatrou, E., Gatidou, G., Damalas, D., Thomaidis, N., & Stasinakis, A. (2017). Destino de los antimicrobianos en los sistemas de tratamiento de aguas residuales de la lenteja de agua *Lemna minor*. *Journal of Hazardous Materials*, 330, 116–126. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.02.005>
- Ibarra, R., Bolaños-Guerrón, D., & Cumbal-Flores, L. (2024). Evaluation of Physicochemical Parameters, Carbamazepine and Diclofenac as Emerging Pollutants in the Machángara River, Quito, Ecuador. *Water*, 16(1026). <https://doi.org/10.3390/w16071026>

- Iori, V., Pietrini, F., & Zacchini, M. (2012). Assessment of ibuprofen tolerance and removal capability in *Populus nigra* L. by *in vitro* culture. *Journal of Hazardous Materials*, 229, 229–230. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.05.097>
- Kummerová, M., Zezulka, Š., Babula, P., & Tříška, J. (2016). Possible ecological risk of two pharmaceuticals diclofenac and paracetamol demonstrated on a model plant *Lemna minor*. *Journal of Hazardous Materials*, 302, 351–361. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.09.057>
- Kurade, M. B., Ha, Y. H., Xiong, J. Q., Govindwar, S. P., Jang, M., & Jeon, B. H. (2021). Phytoremediation as a green biotechnology tool for emerging environmental pollution: A step forward towards sustainable rehabilitation of the environment. *Chemical Engineering Journal*, 415. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129040>
- Lee, J., Ji, K., Lim Kho, Y., Kim, P., & Choi, K. (2011). Chronic exposure to diclofenac on two freshwater cladocerans and Japanese medaka. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(5), 1216–1225. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.03.014>
- Lei, Y., Carlucci, L., Rijnaarts, H., & Langenhoff, A. (2023). Phytoremediation of micropollutants by *Phragmites australis*, *Typha angustifolia*, and *Juncus effuses*. *International Journal of Phytoremediation*, 25(1), 82–88. <https://doi.org/10.1080/15226514.2022.2057422>
- Li, Z. H., & Randak, T. (2009). Residual pharmaceutically active compounds (PhACs) in aquatic environment - status, toxicity and kinetics: A review. *Veterinarni Medicina*, 54(7), 295–314. <https://doi.org/10.17221/97/2009-vetmed>
- Lonappan, L., Brar, S. K., Das, R. K., Verma, M., & Surampalli, R. Y. (2016). Diclofenac and its transformation products: Environmental occurrence and toxicity - A review. *Environment International*, 96, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.014>

- Maack, G., Äystö, L., Carere, M., Clausen, H., James, A., Junghans, M., Junttila, V., Hollender, J., Marinov, D., Stroomberg, G., Triebkorn, R., Verbruggen, E., & Lettieri, T. (2022). Comment on Environmental quality standards for diclofenac derived under the European Water Framework Directive: 1. Aquatic organisms. *Environmental Sciences Europe*, 34(24), 22–25. <https://doi.org/10.1186/s12302-022-00599-y>
- Machado, A. I., Fragoso, R., Dordio, A. V., & Duarte, E. (2020). Performance of *Iris pseudacorus* and *Typha domingensis* for furosemide removal in a hydroponic system. *International Journal of Phytoremediation*, 22(8), 863–871. <https://doi.org/10.1080/15226514.2020.1717431>
- Makwana, V., Kethwas, A., Sapoliya, N., Limbachiya, K., Gamit, S., Verma, P., & Shah, M. (2021). An Invasive Yet Potentially Diverse and Unexplored Genus: *Typha* L. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(38A), 182–194. <https://doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i38a32074>
- Mariza-Duré, G., Medina-García, L., Rodríguez-Bonet, S., Ferreira, F., Heleno-Sezerino, P., & López-Arias, T. (2022). Fitorremediación de contaminantes emergentes de origen farmacéutico en humedales flotantes. *Reportes Científicos de La FACEN*, 13(2), 153–159. <https://doi.org/doi.org/10.18004/rcfacen.2022.13.2.153>
- Marrero-Coto, J., Amores-Sánchez, I., & Coto-Pérez, O. (2012). Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento ambiental. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 46(3), 52–71.
- Marsik, P., Podlipna, R., & Vanek, T. (2017). Study of praziquantel phytoremediation and transformation and its removal in constructed wetland. *Journal of Hazardous Materials*, 323, 394–399. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.045>
- Mathon, B., Coquery, M., Miège, C., Vandycke, A., & Choubert, J. M. (2019).

- Influence of water depth and season on the photodegradation of micropollutants in a free-water surface constructed wetland receiving treated wastewater. *Chemosphere*, 235, 260–270. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.140>
- Merma-Chacca, E., Maldonado, I., & Franz Vilca, F. (2022). Environmental and ecotoxicological effects of drugs used for the treatment of COVID 19. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 1–19. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.940975>
- Meyer, W., Reich, M., Beier, S., Behrendt, J., Gulyas, H., & Otterpohl, R. (2016). Measured and predicted environmental concentrations of carbamazepine, diclofenac, and metoprolol in small and medium rivers in northern Germany. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(487). <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5481-2>
- Mirzaee, S. A., Noorimotlagh, Z., Ahmadi, M., Rahim, F., Martinez, S. S., Nourmohammadi, A., & Jaafarzadeh, N. (2021). The possible oxidative stress and DNA damage induced in Diclofenac-exposed Non-target organisms in the aquatic environment: A systematic review. *Ecological Indicators*, 131(108172). <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108172>
- Mojiri, A. (2012). Phytoremediation of heavy metals from municipal wastewater by *Typha domingensis*. *African Journal of Microbiology Research*, 6(4), 643–647. <https://doi.org/10.5897/ajmr-11-1492>
- Morales-Paredes, C. A., Rodríguez-Díaz, J. M., & Boluda-Botella, N. (2022). Pharmaceutical compounds used in the COVID-19 pandemic: A review of their presence in water and treatment techniques for their elimination. *Science of the Total Environment*, 814(152691). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152691>
- Moreno-Ortiz, V. C., Martínez-Núñez, J. M., Kravzov-Jinich, J., Pérez-Hernández, L. A., Moreno-Bonett, C., & Altagracia-Martínez, M. (2013). Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista Mexicana*

de *Ciencias Farmaceuticas*, 44(4), 17–29.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952013000400003&lng=es&nrm=iso

Musa, K. A., & Eriksson, L. A. (2009). Photodegradation mechanism of the common non-steroid anti-inflammatory drug diclofenac and its carbazole photoproduct. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 11(22), 4601–4610.
<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2009/cp/b900144a>

Mutar, Z., Mohammed, A., & Al-Baldawi, I. (2021). Optimization of Acetaminophen and Methylparaben Removal within Subsurface Batch Constructed Wetland Systems. *Journal of Ecological Engineering*, 23(1), 228–239.
<https://doi.org/10.12911/22998993/143934>

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). Un medio revisado para crecimiento rápido y bioensayos con cultivos de tejido de tabaco. *Physiol Plantarum*, 15, 473–497.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Nandakumar, R., Chen, L., & Rogers, S. M. D. (2004). Factors affecting the Agrobacterium-mediated transient transformation of the wetland monocot, *Typha latifolia*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 79(<https://link.springer.com/article/10.1023/B:TICU.0000049449.77563.56>), 31–38.

Nandakumar, R., Chen, L., & Rogers, S. M. D. (2005). Agrobacterium-mediated transformation of the wetland monocot *Typha latifolia* L. (Broadleaf cattail). *Plant Cell Reports*, 23, 744–750. <https://doi.org/10.1007/s00299-004-0890-z>

Nippes, R. P., Macruz, P. D., da Silva, G. N., & Neves Olsen Scaliante, M. H. (2021). A critical review on environmental presence of pharmaceutical drugs tested for the covid-19 treatment. *Process Safety and Environmental Protection*, 152, 568–582. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.06.040>

Núñez, R., Meas, Y., Ortega, R., & Olguín, E. (2004). Fitorremediación: fundamentos

y aplicaciones. *Ciencia*, 69–82.
https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/55_3/Fitorremediacion.pdf

Olivera, M. E., Allemandi, D. A., & Manzo, R. H. (2003). Equivalencia farmacéutica en comprimidos recubiertos de Diclofenaco sódico. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 22(2), 143–146.
https://www.researchgate.net/publication/293777602_Pharmaceutical_equivalence_of_sodium_diclofenac_delayed-release_tablets

Ortúzar, M., Esterhuizen, M., Olicón-Hernández, D. R., González-López, J., & Aranda, E. (2022). Pharmaceutical Pollution in Aquatic Environments: A Concise Review of Environmental Impacts and Bioremediation Systems. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1–25. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.869332>

Pan, M., Him Lee, L., Tung Sham, Y., Ho Chun Kiu, K., & Zhang, H. (2024). Fitorremediación de Diclofenaco y sulfametoxazol en células y plántulas de *Arabidopsis thaliana*. *Chemosphere*, 364(142989). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142989>

Panja, S., Sarka, D., & Datta, R. (2020). Removal of tetracycline and ciprofloxacin from wastewater by vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) as a function of nutrient concentrations. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(28), 34951–34965. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32583104/>

Pasta, P. C., Da Silva, A. C. P., Jorgetto, A. O., Saeki, M. J., Pedrosa, V. de A., Martines, M. A. U., Schneider, J. F., Minatel, I. O., Rabelo, J., De Castro, R. S. D., & De Castro, G. R. (2022). Use of *Typha angustifolia* L. as Biosorbent to Remove Chloramphenicol in Aqueous Samples. *European Journal of Advanced Chemistry Research*, 3(1), 64–86. <https://doi.org/10.24018/ejchem.2022.3.1.66>

Pasternak, T. P., & Steinmacher, D. (2024). Plant Growth Regulation in Cell and Tissue Culture *In Vitro*. *Plants*, 13(2), 1–24.
<https://doi.org/10.3390/plants13020327>

- Perea-Dallos, M., Gonzáles, T., Campos-Mosos, H., Guillot-Monroy, G., & Cogua-Suárez, J. (2010). Sección del explante. In *Cultivo de Tejidos Vegetales In vitro* (pp. 16–22). [http://repo.iain-tulungagung.ac.id/5510/5/BAB 2.pdf](http://repo.iain-tulungagung.ac.id/5510/5/BAB%202.pdf)
- Pierattini, E. C., Francini, A., Huber, C., Sebastiani, L., & Schröder, P. (2018). Poplar and diclofenac pollution: A focus on physiology, oxidative stress and uptake in plant organs. *Science of the Total Environment*, 636, 944–952. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.355>
- Plasencia, J. (2017). Biología y ecología de las poblaciones de *Typha domingensis* en el embalse San Juan de la Sierra del Rosario, Cuba. *J. Aquat. Plant Manage.* https://www.researchgate.net/publication/318659220_Biologia_y_ecologia_de_las_poblaciones_de_Typha_domingensis_en_el_embalse_San_Juan_de_la_Sierra_del_Rosario_Cuba_Jose_Miguel_Plasencia_Fraga/link/5a870fbda6fdcc6b1a3abd94/download
- Polińska, W., Kotowska, U., Kiejza, D., & Karpińska, J. (2021). Insights into the use of phytoremediation processes for the removal of organic micropollutants from water and wastewater; a review. *Water*, 13. <https://doi.org/10.3390/w13152065>
- Poirier-Larabie, S., Segura, P. A., & Gagnon, C. (2016). Degradation of the pharmaceuticals diclofenac and sulfamethoxazole and their transformation products under controlled environmental conditions. *Science of the Total Environment*, 557–558, 257–267. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.057>
- Rice, E., Bridgewater, L., & Asociación Estadounidense de Salud Pública. (2017). *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater* (23rd ed.). Asociación Estadounidense de Salud Pública. <https://yabesh.ir/wp-content/uploads/2018/02/Standard-Methods-23rd-Perv.pdf>
- Rivera-Jaimes, J. A., Postigo, C., Melgoza-Alemán, R. M., Aceña, J., Barceló, D., & López de Alda, M. (2018). Study of pharmaceuticals in surface and wastewater from Cuernavaca, Morelos, Mexico: Occurrence and environmental risk

- assessment. *Science of the Total Environment*, 613–614, 1263–1274. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.134>
- Rocha, C., Kochi, L., Ribeiro, G., Rocha, D., Carneiro, D., & Gomes, M. (2021). Evaluating aquatic macrophytes for removing erythromycin from contaminated water: floating or submerged? *International Journal of Phytoremediation*, 24(9), 995–1003. <https://doi.org/10.1080/15226514.2021.1991268>
- Ruan, W., Wang, J., Huang, J., Tai, Y., Wang, R., Zhu, W., & Yang, Y. (2022). The *in vivo* and *in vitro* degradation of sulfonamides in wetland plants reducing phytotoxicity and environmental pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(43), 64972–64982. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20395-8>
- Russo, C., Nugnes, R., Orlo, E., di Matteo, A., De Felice, B., Montanino, C., Lavorgna, M., & Isidori, M. (2023). Diclofenac eco-geno-toxicity in freshwater algae, rotifers and crustaceans. *Environmental Pollution*, 335. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122251>
- Ryšlavá, H., Pomeislová, A., Pšondrová, Š., Hýsková, V., & Smrček, S. (2015). Phytoremediation of carbamazepine and its metabolite 10,11-epoxycarbamazepine by C3 and C4 plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(24), 20271–20282. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5190-3>
- Salgado-Costa, C., Rimoldi, F., Peluso, M. L., & Demetrio, P. (2023). Linking environmental exposure and effects of pharmaceuticals on aquatic biota: state of knowledge in Latin America. *Water Emerging Contaminants & Nanoplastics*, 2(8). <https://doi.org/10.20517/wecn.2023.08>
- Sandermann, H. (1994). Metabolismo superior de xenobióticos en las plantas: el concepto de “hígado verde.” *Farmacogenética*, 4(5), 225–241. https://journals.lww.com/jpharmacogenetics/abstract/1994/10000/higher_plant_metabolism_of_xenobiotics_the_green.1.aspx

- Santos-Díaz, M. D. S., Barrón-Cruz, M. D. C., & Alfaro-De La Torre, M. C. (2007). Induction of *in vitro* roots cultures of *Thypha latifolia* and *Scirpus americanus* and study of their capacity to remove heavy metals. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(3), 417–424. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-34582007000300009>
- Sathishkumar, P., Meena, R. A. A., Palanisami, T., Ashokkumar, V., Palvannan, T., & Gu, F. L. (2020). Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota - a review. *Science of the Total Environment*, 698, 134057. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134057>
- Sathishkumar, P., Mohan, K., Meena, R. A. A., Balasubramanian, M., Chitra, L., Ganesan, A. R., Palvannan, T., Brar, S. K., & Gu, F. L. (2021). Hazardous impact of diclofenac on mammalian system: Mitigation strategy through green remediation approach. *Journal of Hazardous Materials*, 419. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126135>
- Scheurell, M., Franke, S., Shah, R. M., & Hühnerfuss, H. (2009). Occurrence of diclofenac and its metabolites in surface water and effluent samples from Karachi, Pakistan. *Chemosphere*, 77, 870–876. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.066>
- Sengupta, A., Sarkar, D., Das, P., Panja, S., Parikh, C., Ramanatha, D., Bagley, S., & Datta, R. (2016). Tetracycline uptake and metabolism by vetiver grass (*Chrysopogon zizanioides* L. Nash). *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 24880–24889. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7688-8>
- Sesin, V., Davy, C. M., & Freeland, J. R. (2021). Review of *Typha* spp. (cattails) as toxicity test species for the risk assessment of environmental contaminants on emergent macrophytes. *Environmental Pollution*, 284. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117105>
- Setién-Prieto, J. M. (2007). Antiinflamatorios No Esteroides (AINES). ¿Dónde

estamos y hacia dónde nos dirigimos? (Primera Parte). *Cient Dent*, 4(3), 203–2012.

https://www.academia.edu/29222073/AINES_DONDE_ESTAMOS_Y_HACIA_DONDE_NOS_DIRIGIMOS

Sistema Global de Información sobre Biodiversidad. (s.f.). *Typha domingensis* Pers. Recuperado el 11 de septiembre de 2024 de <https://www.gbif.org/species/5289534>

Sochacki, A., Nowrotek, M., Felis, E., Kalka, J., Ziemińska-Buczyńska, A., Bajkacz, S., Ciesielski, S., & Miksch, K. (2018). The effect of loading frequency and plants on the degradation of sulfamethoxazole and diclofenac in vertical-flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*, 122, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2018.08.003>

Svanfelt, J., Kallio, J. M., Eriksson, J., & Kronberg, L. (2010). Environmental fate and hazards of the pharmaceutical diclofenac in aquatic environments. *ACS Symposium Series*, 1048, 243–255. <https://doi.org/10.1021/bk-2010-1048.ch011>

Vannini, A., Paoli, L., Vichi, M., Bačkor, M., Bačkorová, M., & Loppi, S. (2018). Toxicity of Diclofenac in the Fern *Azolla filiculoides* and the Lichen *Xanthoria parietina*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 430–437. <https://doi.org/10.1007/s00128-017-2266-4>

Veras, T. B., Ribeiro de Paiva, A., Duarte, M. M. M. B., Napoleão, D. C., & da Silva Pereira Cabral, J. J. (2019). Analysis of the presence of anti-inflammatories drugs in surface water: A case study in Beberibe river - PE, Brazil. *Chemosphere*, 222, 961–969. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.167>

Vo, H., Koottatep, T., Chapagain, S., Panuvatvanich, A., Polprasert, C., Nguyen, T., Chiwong, C., & Nguyen, N. (2019). Removal and monitoring acetaminophen-contaminated hospital wastewater by vertical flow constructed wetland and

- peroxidase enzymes. *Journal of Environmental Management*, 250(109526).
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109526>
- Wojcieszynska, D., Guzik, H., & Guzik, U. (2022). Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the era of the Covid-19 pandemic in the context of the human and the environment. *Science of the Total Environment*, 834.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155317>
- Yan, Q., Feng, G., Gao, X., Sun, C., Guo, J. S., & Zhu, Z. (2016). Removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) and toxicological response of *Cyperus alternifolius* exposed to PhACs in microcosm constructed wetlands. *Journal of Hazardous Materials*, 566–575.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.08.057>
- Zapata-Morales, A. L., Alfaro-De la Torre, M. C., Hernández-Morales, A., & García-De la Cruz, R. F. (2020). Isolation of Cultivable Bacteria Associated with the Root of *Typha latifolia* in a Constructed Wetland for the Removal of Diclofenac or Naproxen. *Water, Air, and Soil Pollution*, 231(423).
<https://doi.org/10.1007/s11270-020-04781-x>
- Zapata-Morales, A. L., Hernández-Morales, A., Alfaro-De la Torre, M., Leyva-Ramos, S., Vázquez-Martínez, J., & Soria-Guerra, R. (2024). Cultivable bacteria contribute to the removal of diclofenac and naproxen mix in a constructed wetland with *Typha latifolia*. *Environ Geochem Health*, 46(524).
<https://doi.org/10.1007/s10653-024-02306-7>
- Zhang, D., Gersberg, R., Hua, T., Zhu, J., Goyal, M., Ng, W., & Tan, S. (2013). Fate of pharmaceutical compounds in hydroponic mesocosms planted with *Scirpus validus*. *Environmental Pollution*, 181, 98–106.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.06.016>
- Zhang, Q., Kroeze, C., Cui, S., Li, Y., Ma, L., Stokal, V., Vriend, P., Wang, M., van Wijnen, J., Xu, W., Zhang, F., & Stokal, M. (2024). COVID-19 estimated to have increased plastics, diclofenac, and triclosan pollution in more than half of urban

- rivers worldwide. *Cell Reports Sustainability*, 1(100001).
<https://doi.org/10.1016/j.crsus.2023.100001>
- Zhang, N., Liu, G., Liu, H., Wang, Y., He, Z., & Wang, G. (2011). Diclofenac photodegradation under simulated sunlight: Effect of different forms of nitrogen and Kinetics. *Journal of Hazardous Materials*, 192(1), 411–418.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.05.038>
- Zhang, Y., Lv, T., Carvalho, P. N., Arias, C. A., Chen, Z., & Brix, H. (2015). Removal of the pharmaceuticals ibuprofen and iohexol by four wetland plant species in hydroponic culture: plant uptake and microbial degradation. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(3), 2890–2898.
<https://doi.org/10.1007/s11356-015-5552-x>
- Zind, H., Mondamert, L., Blancart Remaury, Q., Cleon, A., Karpel Vel Leitner, N., & Labanowski, J. (2021). Occurrence of carbamazepine, diclofenac, and their related metabolites and transformation products in a French aquatic environment and preliminary risk assessment. *Water Research*, 196(117052).
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117052>
- Zimicz, C. (2016). Las plantas y su capacidad para remediar sitios contaminados. *En Temas de Biología y Geología del NOA*, 6(1). 8–15.
[https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/48535/Las Plantas y su capacidad para remediar sitios contaminados.pdf?sequence=5](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/48535/Las%20Plantas%20y%20su%20capacidad%20para%20remediar%20sitios%20contaminados.pdf?sequence=5)

13. ANEXOS

A. Toxicidad inhibición color foliar por día (icfxd) con varianza explicada para un modelo logístico

Nomenclatura	Ecuación ajustada	Significancia estadística	*CI ₅₀ (mg/L)
ICF1d	$y = \frac{\exp(3.4368 + (5.77327)^x)}{1 + \exp(-3.4368 + (5.77327)^x)}$	Pérdida: máxima verosimilitud (MS-err. escalada a 1) Pérdida final: 9.970096620 Chi ² (1)= 13.331 p=.00026	4.12
ICF3d	$y = \frac{\exp(2.5071 + (.609346)^x)}{1 + \exp(-2.5071 + (.609346)^x)}$	Pérdida: máxima verosimilitud (MS-err. escalada a 1) Pérdida final: .495756352 Chi ² (1)= 17.559 p=.00003	0.6
ICF6d	$y = \frac{\exp(-3.1768 + (3.99191)^x)}{1 + \exp(-3.1768 + (3.99191)^x)}$	Pérdida: máxima verosimilitud (MS-err. escalada a 1) Pérdida final: 2.444960834 Chi ² (1)= 19.674 p=.00001	0.8
ILR1d	$y = \frac{\exp(-2.7523 + (3.97491)^x)}{1 + \exp(2.7523 + (3.97491)^x)}$	Modelo: Regresión logística (logit) N of 0's: 4 1's: 4 Pérdida final: .505619620 Chi ² (1)=10.079 p=.00150	0.7
ILR3d	$y = \frac{\exp(-2.0148 + (.409345)^x)}{1 + \exp(-2.0148 + (.409345)^x)}$	Modelo: Regresión logística (logit) N of 0's: 7 1's: 5 Pérdida final: 5.656397107	4.92*

$$(2.0148 + (.409345 \cdot x)) \quad \text{Chi}^2(1) = 4.9878$$

$$p = .02553$$

ILR6d

Sin varianza

*calculada matemáticamente de la ecuación.

El valor IC₅₀ se cuantificó con los valores de cada concentración mediante el modelo de regresión Logit:

$$Y = b_0 - \frac{b_0}{1 + \left(\frac{C}{b_2}\right)^{b_1}}$$

En este modelo, b_0 es la respuesta esperada en saturación, b_2 es la concentración para una respuesta semimáxima y b_1 determina la pendiente de la función. La ecuación representa una función de saturación o de crecimiento logístico, donde Y se aproxima a b_0 a medida que C/b_2 se vuelve muy grande.

B. Cálculo matemático de IC₅₀ de un modelo logístico

$$\text{logit}(p) = \beta_0 + \beta_1 x \Rightarrow IC_{50} = -\frac{\beta_0}{\beta_1}$$

Con la ecuación **Logit ICF3D**:

$$y = \frac{\exp(-2.5071 + 0.609346x)}{1 + \exp(-2.5071 + 0.609346x)}$$

tenemos:

- $\beta_0 = -2.5071$
- $\beta_1 = 0.609346$

IC₅₀

$$IC_{50} = -\frac{\beta_0}{\beta_1}$$

$$IC_{50} = \frac{2.5071}{0.609346} = 4.12$$

C. Toxicidad inhibición biomasa por día (ibxd) con varianza explicada para un modelo de regresión lineal segmentado

Model IB1d: Regresión lineal por tramos con punto de ruptura. Variable dependiente: Pérdida: Mínimos cuadrados Pérdida final: 3678.16 R= 0.93 Varianza explicada: 87.65 %

	Const.B0	C1	Const.B0	C1	Punto de ruptura
Estimación	10.09	5.28	58.98	2.50	50.51

Modelo IB2d: Regresión lineal por tramos con punto de ruptura. Variable dependiente: Pérdida: Mínimos cuadrados Pérdida final: 2816.89 R= 0.93 Varianza explicada: 86.85 %

	Const.B0	C2	Const.B0	C2	Punto de ruptura
Estimación	3.15	4.87	63.15	0.38	43.94

Modelo IBd3. Regresión lineal por tramos con punto de ruptura. Variable dependiente: IP3 Pérdida: Mínimos cuadrados Pérdida final: 16217.25 R= 0.91 Varianza explicada: 82.38 %

	Const.B0	C3	Const.B0	C3	Punto de ruptura
Estimación	-86.28	0.11	4.91	3.22	-25.78

Modelo IB4d: Regresión lineal por tramos con punto de ruptura. Variable dependiente: Pérdida IP4: Mínimos cuadrados Pérdida final: 13602.39 R= 0.86 Varianza explicada: 75.38 %

	Const.B0	C4	Const.B0	C4	Punto de ruptura
Estimación	-18.86	-1.20	39.55	4.88	8.30

Model IB7d: Regresión lineal por tramos con punto de ruptura. Variable dependiente: IP7 Pérdida: Mínimos cuadrados Pérdida final: 4443.17 R= 0.92 Varianza explicada: 85.58 %

	Const.B0	C7	Const.B0	C7	Punto de ruptura
Estimación	-2.65	-4.06	45.73	0.09	20.48

D. Cálculo de la CI_{50} de un modelo del modelo de regresión lineal segmentado

Un modelo típico con un punto de quiebre x_b se expresa como:

Primer tramo (antes del punto de ruptura)

$$y = \beta_{0,1} + \beta_{1,1}x \text{ si } x \leq x_b$$

Segundo tramo (después del punto de ruptura)

$$y = \beta_{0,2} + \beta_{1,2}x \text{ si } x > x_b$$

Cálculo de la IC_{50} en cada tramo

IC_{50} en el primer tramo, se despeja x cuando $y = 50$:

$$IC_{50,1} = \frac{50 - \beta_{0,1}}{\beta_{1,1}}$$

IC₅₀ en el segundo tramo

$$IC_{50,2} = \frac{50 - \beta_{0,2}}{\beta_{1,2}}$$

IC₅₀ válida

La IC₅₀ es válida solo si el valor calculado:

- Cae dentro del intervalo del tramo correspondiente
- El tramo cruza el 50 % de inhibición
- La pendiente tiene sentido biológico (signo correcto)

Si solo uno de los tramos cruza el 50 %, ese es el que se reporta. Si ninguno cruza el 50 %, no se puede estimar IC₅₀ (caso frecuente en respuestas no monótonas).

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA Y REMOCIÓN DE DICLOFENACO EN SISTEMAS <i>IN VITRO</i> DE RAÍCES AISLADAS Y PLANTAS COMPLETAS DE <i>Typha domingensis</i> Pers.
Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:	María del Carmen Alvarado Coronel
ORCID:	https://orcid.org/0009-0009-0618-3227
Resumen de la Tesis:	<p>La toxicidad y eficiencia de remoción de Diclofenaco (DCF) se evaluaron en cultivos <i>in vitro</i> de <i>Typha domingensis</i>. Para los experimentos se suministraron plántulas resultantes del proceso de germinación en medio de cultivo 0.1MS. Asimismo, se cultivaron raíces de campo de forma autotrófa y heterótrofa en 0.5MS con y sin, amonio y 0.1mg/L de ANA y CIN que resultaron recalcitrantes a la asepsia y rizogénesis. El cultivo heterótrofo de raíces juveniles en 0.1MS y 0.5MS, con y sin ANA y CIN, suministró plantas completas en 0.5MS.</p> <p>En cultivo de plántulas/luz se ensayaron 0, 1, 3, 5, 7 y 10 mg/L de DCF y en planta/osc, 7mg/L. Según el experimento, se evaluaron toxicidad aguda, remoción porcentual final, y cinética porcentual con velocidad de descenso de la remoción de DCF. Las plántulas/luz mostraron toxicidad al presentar clorosis y fragilidad de los tejidos a 10 mg/l, y en las plantas/osc la toxicidad por necrosis parcial de las raíces y la reducción del follaje se intensificó en presencia</p>

	<p>de la condición previa AIA/CIN. Los modelos logit para la clorosis dieron CI_{50} confiables de 0.6-4.12, indicativos de sensibilidad temprana a DCF. Como la biomasa mostró secuencialmente inhibición temprana, estimulación del crecimiento en 3, 5 y 7 mg/L e inhibición tardía, se usaron modelos de regresión segmentada que indicaron CI_{50} de 7.6-9.6.</p> <p>La remoción porcentual de DCF resultó exponencial. La remoción cinética sobrepasó el 70 % a 10 mg/L entre 5 y 10 días y esta fue inversamente proporcional a la velocidad. Las plantas/osc removieron 27 %.</p> <p>Las evidencias destacan a una hidrófita con resistencia tóxica al DCF y eficiencia de remoción continua, según su estado vital.</p>
<p>Palabras claves de la Tesis:</p>	<p>Fitorremediación, Toxicología, <i>Typha</i>, Contaminación Acuática, Fármacos</p>
<p>Referencias citadas:</p>	<p>Agathokleous, E., Kitao, M., & Calabrese, E. J. (2018). Human and veterinary antibiotics induce hormesis in plants: Scientific and regulatory issues and an environmental perspective. <i>Environment International</i>, 120, 489–495. https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.035</p> <p>Akhtar, N., Hameed, M., Nawaz, F., Ahmad, K. S., Hamid, A., Segovia-Salcedo, C., & Shahnaz, M. M. (2017). Leaf anatomical and biochemical adaptations in <i>Typha domingensis</i> Pers. ecotypes for salinity tolerance. <i>Botanical Sciences</i>, 95(4), 807–821. https://doi.org/10.17129/botsci.886</p> <p>Alcantara-Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. <i>Nova</i>, 17(32), 109–129. https://doi.org/10.22490/24629448.3639</p> <p>Amos-Sibeko, P., Naicker, D., Mdluli, P. S., & Madikizela, L. M. (2019). Naproxen, ibuprofen, and diclofenac residues in river water, sediments and <i>Eichhornia crassipes</i> of</p>

	<p>Mbokodweni river in South Africa: An initial screening. <i>Environmental Forensics</i>, 20(2), 129–138. https://doi.org/10.1080/15275922.2019.1597780</p> <p>Arman, N. Z., Salmiati, S., Aris, A., Salim, M. R., Nazifa, T. H., Muhamad, M. S., & Marpongahtun, M. (2021). A review on emerging pollutants in the water environment: Existences, health effects and treatment processes. <i>Water (Switzerland)</i>, 13(22), 1–31. https://doi.org/10.3390/w13223258</p> <p>Ávila, C., Pedescoll, A., Matamoros, V., Bayona, J., & García, J. (2020). Capacidad de un sistema de humedal construido con flujo subterráneo horizontal para la eliminación de contaminantes emergentes: un experimento de inyección. <i>Chemosphere</i>, 81(9), 1137–1142. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.006</p> <p>Baldwin, B., & Cannon, A. (2007). <i>Typha</i> review. Universidad Estatal de Utah. https://files.cfc.umt.edu/cesu/NPS/USU/2006/06/Baldwin_GRKO_Typha_review_frpt.pdf</p> <p>Zapata-Morales, A. L., Alfaro-De la Torre, M. C., Hernández-Morales, A., & García-De la Cruz, R. F. (2020). Isolation of Cultivable Bacteria Associated with the Root of <i>Typha latifolia</i> in a Constructed Wetland for the Removal of Diclofenac or Naproxen. <i>Water, Air, and Soil Pollution</i>, 231(423). https://doi.org/10.1007/s11270-020-04781-x</p> <p>Zapata-Morales, A. L., Hernández-Morales, A., Alfaro-De la Torre, M., Leyva-Ramos, S., Vázquez-Martínez, J., & Soria-Guerra, R. (2024). Cultivable bacteria contribute to the removal of diclofenac and naproxen mix in a constructed wetland with <i>Typha latifolia</i>. <i>Environ Geochem Health</i>, 46(524). https://doi.org/10.1007/s10653-024-02306-7</p> <p>Zhang, D., Gersberg, R., Hua, T., Zhu, J., Goyal, M., Ng, W., & Tan, S. (2013). Fate of pharmaceutical compounds in hydroponic mesocosms planted with <i>Scirpus validus</i>. <i>Environmental Pollution</i>, 181, 98–106. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.06.016</p> <p>Zhang, Q., Kroeze, C., Cui, S., Li, Y., Ma, L., Stokal, V., Vriend, P., Wang, M., van Wijnen, J., Xu, W., Zhang, F., & Stokal, M. (2024). COVID-19 estimated to have increased plastics, diclofenac,</p>
--	---

	<p>and triclosan pollution in more than half of urban rivers worldwide. <i>Cell Reports Sustainability</i>, 1(100001). https://doi.org/10.1016/j.crsus.2023.100001</p> <p>Zhang, N., Liu, G., Liu, H., Wang, Y., He, Z., & Wang, G. (2011). Diclofenac photodegradation under simulated sunlight: Effect of different forms of nitrogen and Kinetics. <i>Journal of Hazardous Materials</i>, 192(1), 411–418. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.05.038</p> <p>Zhang, Y., Lv, T., Carvalho, P. N., Arias, C. A., Chen, Z., & Brix, H. (2015). Removal of the pharmaceuticals ibuprofen and iohexol by four wetland plant species in hydroponic culture: plant uptake and microbial degradation. <i>Environmental Science and Pollution Research</i>, 23(3), 2890–2898. https://doi.org/10.1007/s11356-015-5552-x</p> <p>Zind, H., Mondamert, L., Blancart Remaury, Q., Cleon, A., Karpel Vel Leitner, N., & Labanowski, J. (2021). Occurrence of carbamazepine, diclofenac, and their related metabolites and transformation products in a French aquatic environment and preliminary risk assessment. <i>Water Research</i>, 196(117052). https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117052</p> <p>Zimicz, C. (2016). Las plantas y su capacidad para remediar sitios contaminados. In <i>Temas de Biología y Geología del NOA</i> (Vol. 6, Issue 1, pp. 8–15). https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/48535/Las Plantas y su capacidad para remediar sitios contaminados.pdf?sequence=5</p>
--	---