

## FITORREMEDIACIÓN DE COLORANTES SINTÉTICOS MEDIANTE *Lemna minuta*

Phytoremediation of synthetic dyes by *Lemna minuta*

Flor Y. RAMÍREZ-CASTILLO<sup>1</sup>, Alma L. GUERRERO-BARRERA<sup>1\*</sup>,  
Francisco J. AVELAR-GONZÁLEZ<sup>2</sup>, Abraham LOERA-MURO<sup>3</sup>, Cynthia D. GUTIÉRREZ-MONTIEL<sup>1</sup>,  
Paloma M. CAMPOS-NAVARRO<sup>1</sup> y Mariana M. HERRERA-SAUCEDO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Biología Celular y Tisular, Departamento de Morfología, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad 940, Ciudad Universitaria 20100, Aguascalientes, México.

<sup>2</sup> Laboratorio de Estudios Ambientales, Departamento de Fisiología y Farmacología, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad 940, Ciudad Universitaria 20100, Aguascalientes, México.

<sup>3</sup> SECIHTI - Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste (CIBNOR), Av. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur 23096, La Paz, México.

\*Autor para correspondencia: [lilian.guerrero@edu.uaa.mx](mailto:lilian.guerrero@edu.uaa.mx)

(Recibido: abril 2025; aceptado: julio 2025)

Palabras clave: contaminación de agua, remediación, remoción, lenteja de agua, verde de malaquita, violeta de cresilo, azul marino.

### RESUMEN

Los colorantes son sustancias químicas que se utilizan en la industria en general para dar color a los productos. Sin embargo, los colorantes son considerados uno de los principales compuestos contaminantes de los cuerpos de agua. Estos químicos pueden ser mutagénicos, carcinogénicos, alergénicos y citotóxicos para todas las formas de vida. Los tratamientos convencionales para su eliminación tienen alto costo, baja eficiencia y la inaplicabilidad a una amplia variedad de tinturas. La fitorremediación es una serie de técnicas ecológicas, limpias y de bajo costo utilizada para la erradicación de contaminantes del ambiente mediante la utilización de plantas. En este estudio, se evaluó la capacidad fitorremediadora de la planta flotante *Lemna minuta* para la remoción de los colorantes verde de malaquita (VM, 5 y 10 mg/L), acetato de violeta de cresilo (VC, 5 y 10 mg/L) y el colorante textil comercial azul marino (AM, 80, 240 y 800 mg/L). Los valores de absorbancia fueron determinados en los tiempos 24, 48, 72 (VM, VC), 96 y 168 h (AM). Los resultados muestran porcentajes de remoción mayores a 97 % para VM y VC en 72 h, así como porcentajes de remoción cercanos a 80 % para el caso de AM en todas las concentraciones probadas en los tiempos de 96 y 168 h. Los resultados mostraron que *L. minuta* tiene una alta capacidad de remoción para todos los colorantes probados independientemente de las condiciones de luz u oscuridad.

Key words: water pollution, remediation, removal, duckweed, cresyl violet acetate, malachite green, deep blue.

### ABSTRACT

Dyes are chemical substances used in industry in general to give color to products. However, they are significant pollutants in water bodies. Dyes can be mutagenic,

carcinogenic, allergenic, and cytotoxic to various life forms. Conventional methods for removing these chemicals are often costly, inefficient, and not applicable to all types of dyes. Phytoremediation offers a series of environmentally friendly, low-cost techniques for eliminating contaminants from the environment using plants. This study investigates the phytoremediation capability of the floating plant *Lemna minuta* for removing three specific dyes: malachite green (MG) at concentrations of 5 and 10 mg/L, cresyl violet acetate (CV) at 5 and 10 mg/L, and a commercial textile dye called navy-blue (NB) at concentrations of 80, 240, and 800 mg/L. The absorbance values were measured at intervals of 24, 48, and 72 h for MG and CV, and at 96 and 168 h for NB. The results showed removal percentages exceeding 97 % for MV and CV within 72 h, while the removal efficiency for NB was nearly 80% across all tested concentrations at 96 and 168 h. Overall, the findings indicate that *L. minuta* has a high capacity to remove the dyes malachite green, cresyl violet acetate, and the navy-blue textile dye, regardless of light conditions.

## INTRODUCCIÓN

Los colorantes son compuestos altamente utilizados para teñir productos industriales, sin embargo, su uso se encuentra asociado con un alto grado de contaminación del agua superficial. Los colorantes se utilizan ampliamente por diversas industrias, tales como las del cuero, la pintura, el caucho, los productos farmacéuticos, cosméticos, los textiles, los plásticos, la generación de impresiones y la industria papelería (Castillo-Suárez et al. 2023). Se estima que cerca del 10 % de los colorantes usados en la industria textil se pierden en el sistema de coloración, y 2 % son directamente descargados en efluentes acuáticos sin un tratamiento adecuado (Sorour et al. 2024). Estos compuestos generalmente conservan su integridad estructural y color bajo la exposición a la luz solar y exhiben una alta resistencia a la degradación microbiana en el proceso de tratamiento de aguas residuales (Tizazu et al. 2022). De acuerdo con Ardila-Leal et al. (2021), en el ambiente, los colorantes impiden la penetración de la luz solar en los cuerpos de agua, la fotosíntesis y el crecimiento de la flora acuática, provocando una reducción del oxígeno disuelto debido a un aumento conjunto de la demanda biológica de oxígeno (DBO) y la demanda química de oxígeno (DQO). Adicionalmente, estos contaminantes pueden provocar un incremento de los niveles de nutrientes en el agua, lo que conduce al florecimiento excesivo del fitoplancton, una proliferación que consume aún más oxígeno, lo que puede desencadenar el proceso de eutroficación (Periyasamy 2025). Además, por su origen sintético y su estructura de anillos aromáticos, son frecuentemente tóxicos, mutagénicos y/o cancerígenos (Sorour et al. 2024). Asimismo, pueden causar otros daños a la salud tales como alergia, dermatitis e irritación de la piel (Al-Tohamy et al. 2022).

Dentro de la gran cantidad de colorantes utilizados por la industria, podemos encontrar tres de gran importancia: verde de malaquita, acetato de violeta de cresilo y el colorante textil comercial azul marino (AM). El verde de malaquita (VM) es un colorante sintético básico hidrosoluble que da una coloración verde y se utiliza en el campo textil para teñir seda y cuero, así como para el teñido del papel (Zhao y Wei 2020, Moumen et al. 2022). Además, este colorante también es usado como antiséptico, fungicida y antibacterial en el sector acuícola para el manejo y control de enfermedades y parásitos en peces (Lin et al. 2016). El VM puede degradarse fotoquímicamente mediante el uso de fotocatalizadores, como la luz UV y el dióxido de titanio, o bien mediante la degradación enzimática llevada a cabo por bacterias. Este proceso puede generar subproductos potencialmente más dañinos y persistentes que el contaminante original, como es el caso de su forma reducida, la leucomalaquita del VM, la cual puede persistir en tejidos de peces comestibles durante largos periodos de tiempo. Por ello, tanto el VM, como su subproducto de degradación, son bioacumulables en los ecosistemas terrestres y acuáticos, ejerciendo efectos perjudiciales sobre el ambiente y la salud humana (Rai et al. 2014). Por otra parte, este colorante puede ser corrosivo e irritante (NCBI 2025a) y tiene propiedades altamente tóxicas y cancerígenas que afectan a las células de mamíferos causando tumores en el hígado y la vejiga (Ismail et al. 2019, NCBI 2025a).

El colorante acetato de violeta de cresilo (VC) es ampliamente utilizado en el laboratorio para tinción microscópica y observación en campo claro en múltiples estudios, por ejemplo, como marcador para técnicas de inmunohistoquímica, la determinación del volumen y el área de infarto cerebrales en ratas (Türeyen et al. 2004, Rousselet et al. 2012), como fluoróforo para localizar lisosomas y vacuolas ácidas en levaduras, células

murinas, caninas y de humanos, así como en células de *Drosophila* (Ostrowski et al. 2016), en la tinción de gránulos ácidos en neutrófilos vivos (Ostrowski et al. 2020), entre otras técnicas. Sin embargo, este colorante puede causar irritación de la piel, irritación en los ojos e irritación del tracto respiratorio (NCBI 2025b).

Por otra parte, la industria textil en general, consume grandes volúmenes de agua para la fabricación de telas con tinte, por lo que genera grandes cantidades de agua contaminada con tintes. Estos compuestos se diseñan para ser altamente resistentes a la exposición solar, al ataque químico, o incluso a la degradación microbiana, por lo que son difíciles de eliminar en las plantas de tratamiento convencionales (Cortazar-Martinez et al. 2012). Se estima que más del 90 % de los colorantes persisten después de los tratamientos con lodos activados y son recalcitrantes a la acción de depuración de dichos tratamientos (Días et al. 2007, Cortazar-Martinez et al. 2012). Los colorantes tipo azo, los más utilizados en esta industria, pueden generar subproductos intermediarios resultantes de su degradación fotoquímica como lo son las aminas aromáticas, las cuales presentan una alta toxicidad, siendo moléculas carcinogénicas y mutagénicas (Jadhav et al. 2007, Sun et al. 2013, Ismail et al. 2019).

En este escenario, la fitorremediación ha surgido como una técnica verde y efectiva que utiliza plantas para inmovilizar, absorber, estabilizar, reducir la toxicidad o degradar los compuestos contaminantes que se liberan al ambiente (Kafle et al. 2022). *Lemna minuta* es una angiosperma monocotiledónea de la familia Araceae, originaria de las regiones templadas de América del Norte y del Sur. Es una planta vascular acuática de distribución cosmopolita y que se presenta en sistemas acuáticos lénticos. Se caracteriza por el rápido crecimiento de sus frondas (o talos) convexas (1-2 X 0.5 - 1 mm) y uninervadas, así como un tamaño pequeño de no más de tres milímetros de longitud (Ramirez-Barbativa 2019). Se encuentra flotando libremente en lagos, arroyos de corriente lenta y estanques. Se ha reportado que *L. minuta* tiene la capacidad de hiperacumular fosfatos y nitratos (Ceschin et al. 2020), fenoles y metales pesados (Chiudioni et al. 2017, Paisio et al. 2018). Asimismo, la familia Lemnaceae tiene una gran capacidad de absorción de contaminantes en agua y puede utilizar los procesos de rizofiltración, fitoextracción o fitoacumulación, y fitodegradación de manera simultánea durante el proceso de fitorremediación (Al-Baldawi et al. 2022, Ekperusi et al. 2022). De hecho, se ha observado que especies de *Lemna* como *Lemna minor*, una planta estrechamente relacionada con *L. minuta*, tiene la capacidad de eliminar y

convertir muchos contaminantes tales como el colorante azul de metileno, el rojo Congo o el colorante azul ácido 92 en dióxido de carbono, agua y otros productos intermediarios (Khataee et al. 2012, Imron et al. 2019, Wibowo et al. 2023, Ramirez-Castillo et al. 2024), por lo que tiene un gran potencial para la purificación de aguas residuales siendo considerada como una planta fitorremediadora (Kaur y Kanwar et al. 2022, Zhou et al. 2023).

Estudios previos han reportado el tratamiento exitoso en la remoción de colorantes de aguas de desecho provenientes de la industria textil conteniendo los colorantes negro remazol 5, violeta reactivo 1 y amarillo reactivo 145, mediante un proceso de fitorremediación en humedales artificiales con la planta *L. minuta* (Sivakumar et al. 2015, Sivakumar et al. 2018). Sin embargo, el proceso de fitorremediación para diversos colorantes mediante *L. minuta* aún continúa siendo poco explorado. En este estudio se evaluó la capacidad de remoción de los colorantes verde de malaquita (5 mg/L y 10 mg/L), acetato de violeta de cresilo (5 mg/L y 10 mg/L) y un colorante textil comercial azul marino (80 mg/L, 240 mg/L y 800 mg/L), mediante *L. minuta* (lenteja de agua) en condiciones de luz y oscuridad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Cultivo de la planta y condiciones de crecimiento

*L. minuta* fue colectada en un estanque de agua natural en el municipio de San José de Gracia en el estado de Aguascalientes, México (22°08'43.3"N, 102°20'47.1"W) durante el mes de abril de 2024. Las plantas fueron observadas con microscopio estereoscópico e identificadas mediante clave taxonómica (Sánchez-Guillón y Galán de Mera 2014).

La planta fue colectada de la superficie del agua del estanque mediante una red de arrastre. De manera similar, se recolectó agua superficial en botes de plástico transparentes de boca ancha de 1 L, previamente lavados y desinfectados con etanol a 70 %. Las plantas fueron colocadas en los botes con 500 mL de agua del estanque y se transportaron a temperatura ambiente. Inicialmente, las plantas fueron lavadas suavemente con agua de grifo para remover impurezas no deseadas. Posteriormente se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio a 0.5 % (v/v) durante 30 segundos (OECD 2006). El material vegetal se enjuagó con agua destilada estéril por 2 h.

Para el precultivo y aclimatación se seleccionaron plantas con fronda sin clorosis ni necrosis evidente a simple vista y sin desprendimiento de raíz. Las

plantas fueron propagadas en contenedores de plástico de 20 L conteniendo 10 L de agua destilada estéril con solución nutritiva Bayfolan Forte (Bayer®, México) utilizada de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La propagación se realizó colocando 30 g de la planta (peso húmedo) en los contenedores y se llevó a cabo bajo condiciones ambientales de temperatura ( $24 \pm 3$  °C) y luz (2000-10 000 luxes) durante siete días antes del ensayo de fitorremediación. Todas las plantas utilizadas mostraron una coloración verde limón intenso sin desprendimiento de la raíz (planta sana) antes del ensayo.

### Análisis de los colorantes

Se evaluaron tres colorantes distintos como contaminantes a ser removidos: verde de malaquita (Hycel de México, México), acetato de violeta de cresilo (Spectrum, NJ, Estados Unidos de América), y colorante textil comercial azul marino (marca “El caballito”, México). Este último contiene una mezcla de los colorantes azul 86, 151, 200, 201, 102, 71; negro 22, rojo 23 y amarillo 50. Algunos de estos tintes se han clasificado como seguros para la salud humana (rojo directo 23, amarillo directo 50, azul directo 71, azul directo 86), otros pueden causar irritación o alergia en piel (azul 102), cáncer o defectos genéticos (azul 151), o bien ser causantes de daños en órganos a través de exposición prolongada o repetida (azul 201) (NCBIA-j 2025). La descripción del VM y del VC se presenta en el **cuadro I** (NCBIA-j 2025). La estructura química de los colorantes utilizados se muestra en la **figura 1** (NCBIA-j 2025).

### Ensayo de fitorremediación

Los ensayos de fitorremediación fueron realizados en matraces de 250 mL conteniendo 100 mL de solución coloreada de VM y VC en concentraciones

de 5 mg/L y 10 mg/L, así como AM en concentraciones de 80 mg/L, 240 mg/L y 800 mg/L. Todas las soluciones coloreadas fueron preparadas utilizando como disolvente agua destilada estéril. Dentro del ensayo de remoción del colorante comercial AM, las concentraciones probadas fueron mucho mayores en comparación con las probadas con los colorantes de uso de laboratorio. La mayor concentración del colorante probada para su remoción por *L. minuta* fue de 800 mg/L, la cual fue elaborada con base en las sugerencias de uso del producto y las instrucciones del fabricante. Asimismo, se prepararon dos concentraciones menores para determinar el límite de remoción por concentración de *L. minuta* (80 mg/L y 240 mg/L). El potencial de fitorremediación se probó en condiciones de luz y oscuridad para determinar la influencia de la luz en la degradación de los colorantes. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento divididas en dos grupos. En el primer grupo el experimento se hizo a temperatura ambiente ( $24^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$ ) bajo luz de lámpara blanca de 10 000 a 25 000 luxómetros (Al-Baldalwi et al. 2018), mientras que el segundo se realizó en condiciones de oscuridad. Para ambos grupos, se utilizaron cinco gramos de *L. minuta* para exponerla al agua contaminada con la solución de colorantes a diversas concentraciones y se aseguró que todas las raíces de las plantas llegaran al fondo de los matraces durante las pruebas (Török et al. 2015, Alkumar et al. 2018, Ramírez-Castillo et al. 2024). Como testigos de crecimiento se utilizó planta sin colorantes y como testigos de coloración una solución de colorante sin planta por cada colorante a analizar.

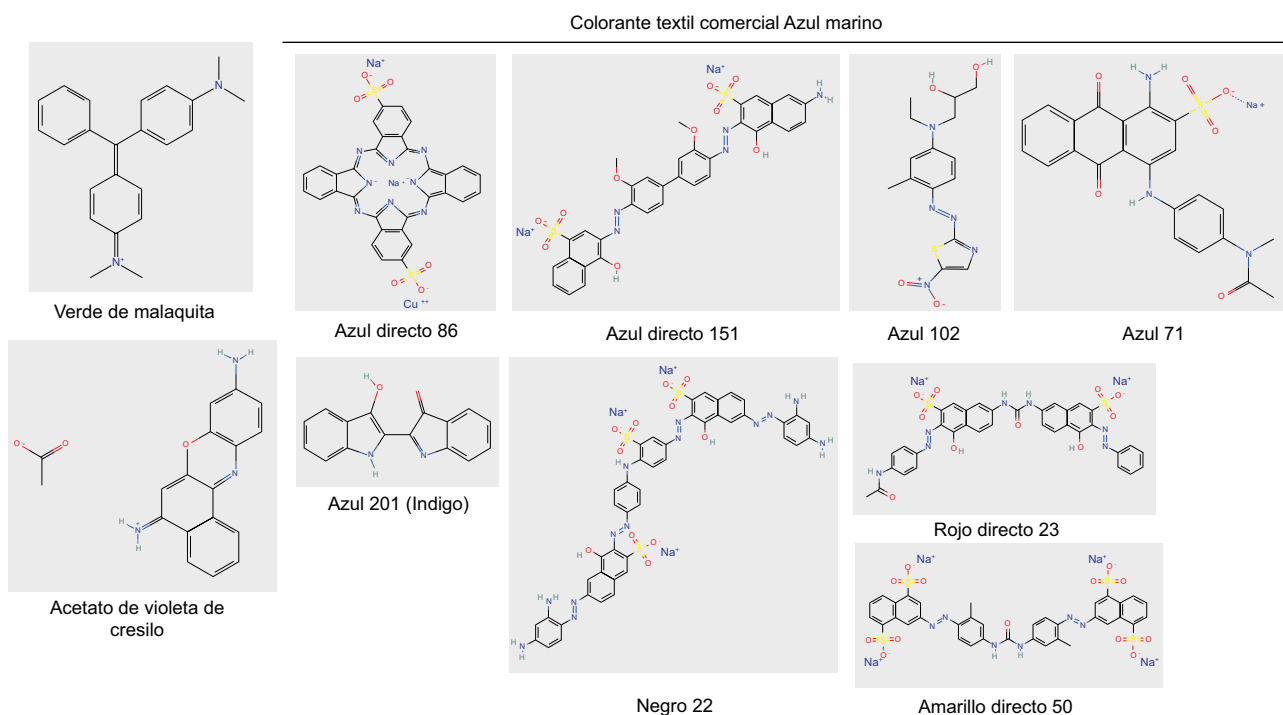
Debido a que el AM es una mezcla de colorantes, se realizó un espectro de absorción en espectrofotómetro de UV/Vis (Hach DR/4000 L) para determinar la longitud de onda de máxima absorción y establecer

**CUADRO I.** DESCRIPCIÓN DE LOS COLORANTES VERDE DE MALAQUITA Y ACETATO DE VIOLETA DE CRESILO UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO.

Nombre comercial	Nombre IUPAC <sup>a</sup>	Clasificación	Formula química	Peso molecular (g/mol)	Referencia
Verde de malaquita	[4-[[4-(dimethylamino)phenyl]-phenylmethylidene]cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene]-dimethylazanium;chloride	Trifenilmetano, tipo di- y triarilico	$\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{Cl}$	364.90	<sup>b</sup> NCBI 2025a
Acetato de violeta de cresilo	9-aminobenzo[a]phenoxazin-5-ylidene)azanium; acetate	Azina - fenoxazinas	$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}$	321.3	NCBI 2025b

<sup>a</sup>Unión Internacional de Química Pura y Aplicada, por sus siglas en inglés.

<sup>b</sup>Centro Nacional de Información Biotecnológica, por sus siglas en inglés.



**Fig. 1.** Estructura química de los colorantes utilizados como contaminantes en este estudio. Las estructuras químicas fueron obtenidas de PubChem (NCBI 2025a-j).

la longitud óptima de medición de la absorbancia ( $\lambda_{\max} = 570$ ). Se realizaron curvas patrón de absorbancia con concentraciones conocidas para cada colorante (0.5, 1, 5, 10 y 15 mg/L para VM y VC, y 60, 80, 120, 240, 800 y 1000 mg/L para AM). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

Para el ensayo, se recolectaron muestras de 5 mL a las 24, 48, y 72 h para el VM y el VC. Debido a las altas concentraciones utilizadas para el colorante comercial AM, el tiempo de contacto se extendió hasta las 168 h, con tiempos de muestreo a las 24, 48, 72, 96 y 168 h. Se midieron los valores de absorbancia en cada tiempo de muestreo a 618 nm para el VM (Hernández-Chávez et al. 2024), 590 nm para el VC (Bayrakceken et al. 2012) y 570 nm para el AM en un espectrofotómetro UV/Vis Hach DR/4000 L. Finalmente, la remoción de los colorantes fue evaluada mediante la absorbancia en términos de decoloración. El porcentaje de decoloración fue calculado con base en la ecuación de Al Farraj et al. (2019) con modificaciones:

$$\text{Decoloración (\%)} = \left(1 - \frac{A_t}{A_0}\right) \times 100$$

Donde,  $A_0$  describe el promedio de la absorbancia de la solución coloreada sin tratamiento (en cada tiempo de muestreo) y  $A_t$  describe el promedio de la

absorbancia medida después de la incorporación de *L. minuta* a las soluciones de colorantes al tiempo  $t$  (diferentes tiempos de muestreo).

### Parámetros físicos y químicos

La variación del pH y la temperatura en el tiempo cero y durante el proceso de remoción de los colorantes se registraron mediante un medidor de pH con termómetro (Hanna Instruments, EUA).

### Análisis estadístico

Para analizar los resultados de los experimentos se utilizó el análisis de variancia de un factor con la prueba de comparación múltiple Turkey, mediante el programa Prism (v 10.3.0, GraphPad, San Diego, California, EUA). Los resultados fueron considerados estadísticamente significativos con  $p \leq 0.05$ . Los datos se presentan como el promedio y la desviación estándar de tres réplicas.

## RESULTADOS

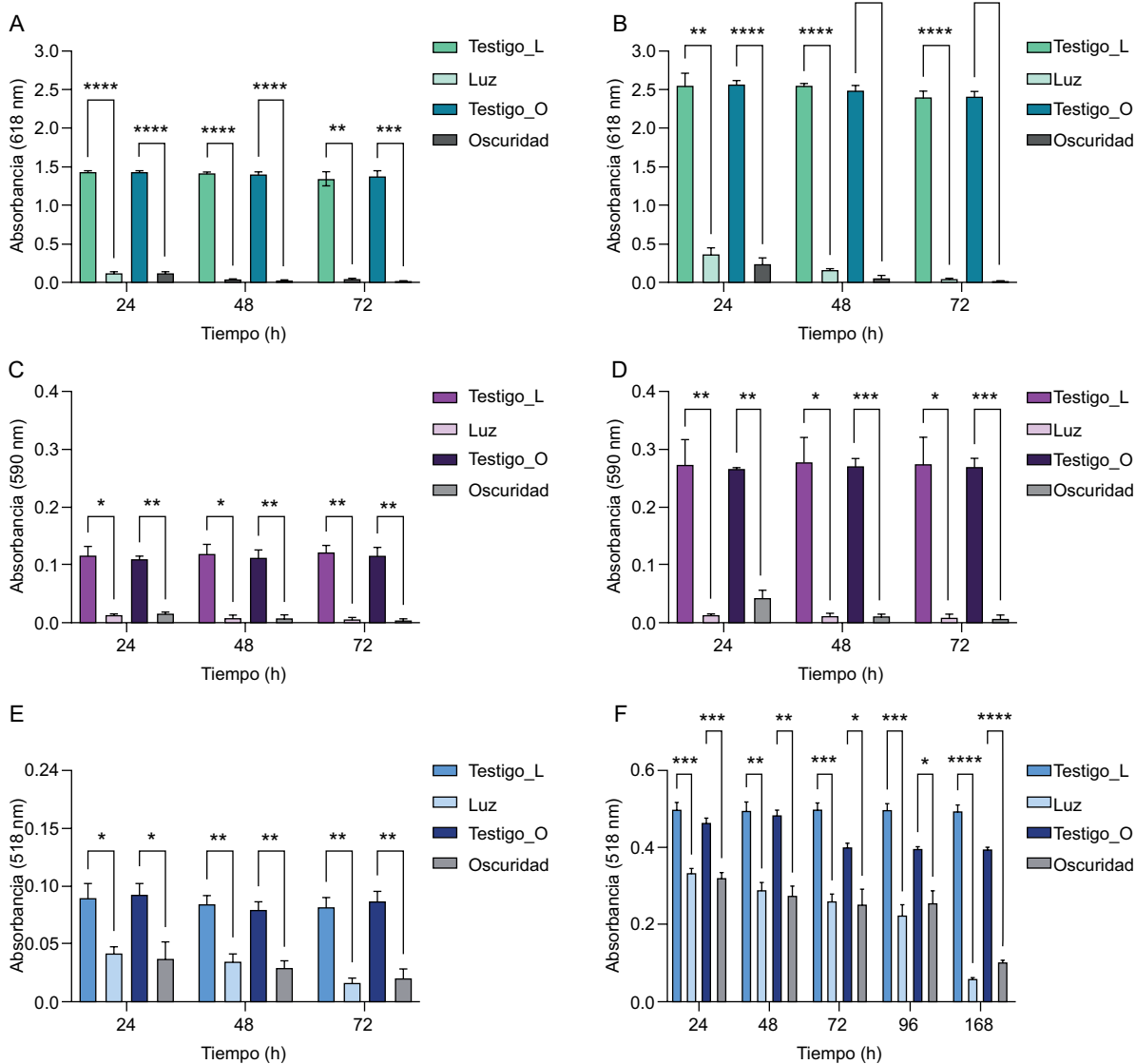
### Remoción del colorante verde de malaquita por *L. minuta*

Los resultados del efecto de *L. minuta* en la disminución de la absorbancia de las soluciones del

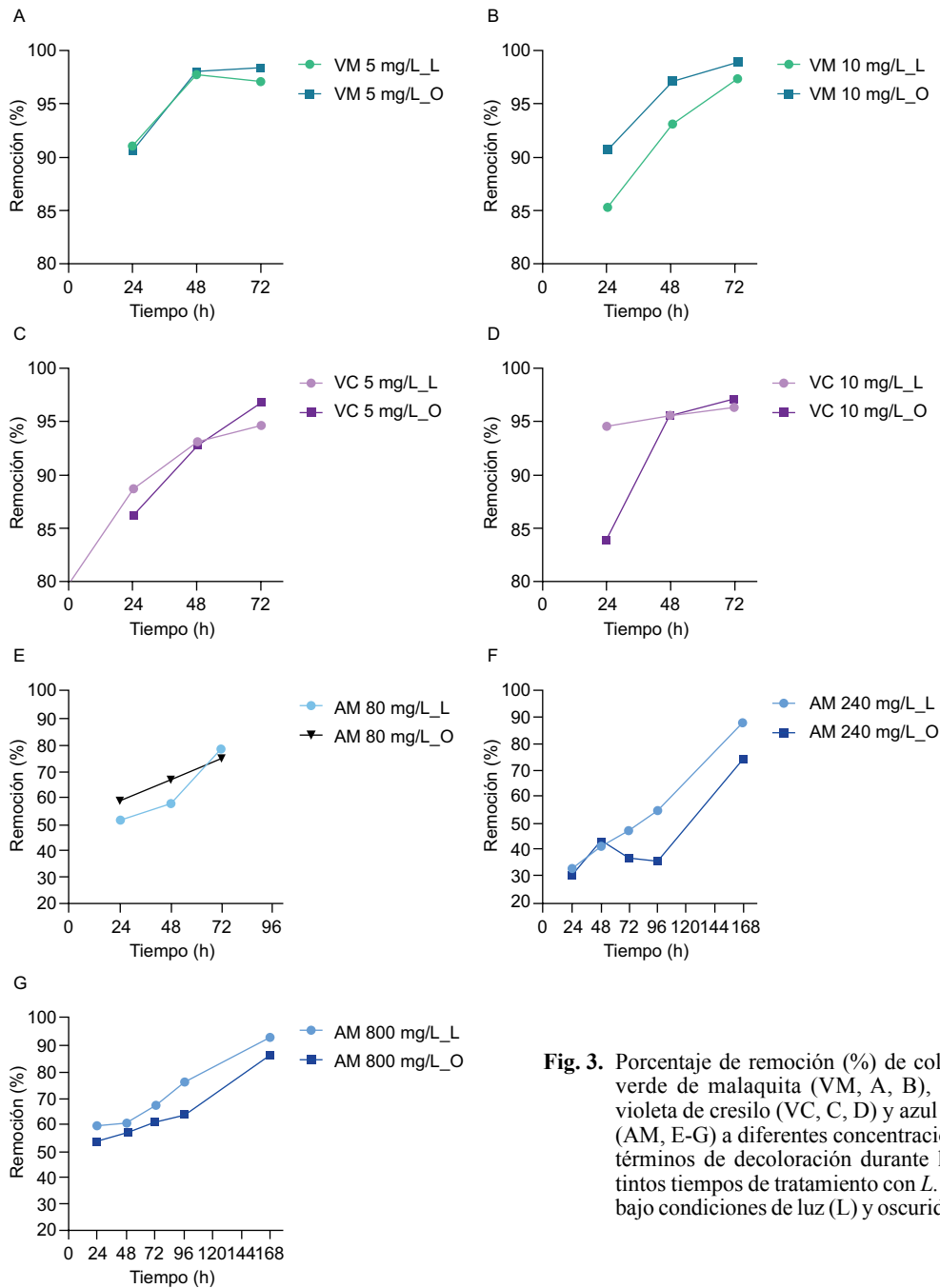
colorante verde de malaquita (VM) se muestran en la **figura 2A-B**. Se observaron diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento a partir de las 24 h en las dos concentraciones probadas (5 mg/L, **Fig. 2A**; y 10 mg/L, **Fig. 2B**). Entre los tratamientos de luz y oscuridad sólo se observaron diferencias significativas a las 72 h de tiempo de contacto a una concentración de 10 mg/L (**Fig. 2B**).

En cuanto al porcentaje de remoción de los colorantes, la máxima eficiencia de remoción se

logró con el mayor tiempo de contacto para todos los colorantes y concentraciones probadas (**Fig. 3**). Se encontraron eficiencias de remoción de 97.7 % y 98.4 % a las 72 h de tiempo de contacto para el VM en el tratamiento bajo luz y oscuridad, respectivamente, a una concentración de 5 mg/L (**Fig. 3A**). Se tuvieron eficiencias de remoción similares en la concentración de 10 mg/L con 97.4 % y 98.9 % para el tratamiento de luz y oscuridad, respectivamente (**Fig. 3B**).



**Fig. 2.** Disminución de la absorbancia de los colorantes verde de malaquita (VM, A, B) y acetato violeta de cresilo (VC, C, D), a concentraciones de (A, C) 5 mg/L y (B, D) 10 mg/L después del tratamiento con *Lemna minuta* bajo luz (L) y oscuridad (O) a diferentes tiempos de contacto (24, 48 y 72 h). Disminución de la absorbancia del colorante textil comercial azul marino (AM) en las concentraciones de 80 mg/L (E), 240 mg/L (F), y 800 mg/L (G), después del tratamiento con *L. minuta* bajo luz (L) y oscuridad (O) a diferentes tiempos de contacto (24, 48, 72, 96 y 168 h). Los resultados se presentan como medias  $\pm$  desviación estándar. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , \*\*\*\* $p < 0.0001$ .



**Fig. 3.** Porcentaje de remoción (%) de colorantes verde de malaquita (VM, A, B), acetato violeta de cresilo (VC, C, D) y azul marino (AM, E-G) a diferentes concentraciones en términos de decoloración durante los distintos tiempos de tratamiento con *L. minuta* bajo condiciones de luz (L) y oscuridad (O).

### Remoción del colorante acetato de violeta de cresilo por *L. minuta*

En el ensayo de la remoción del acetato de violeta de cresilo, la disminución de la absorbancia fue significativa ( $p < 0.0001$ ) a partir de las 24 h para ambas concentraciones para las dos condiciones de tratamiento (luz y oscuridad). Igualmente, en el caso de la solución de VC a 5 mg/L, la absorbancia

disminuyó en los demás tiempos de contacto en el tratamiento bajo luz y oscuridad. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre la absorbancia de estos tiempos de tratamiento (Fig. 2C). De manera similar, para el caso de la mayor concentración probada (10 mg/L), no se observaron diferencias significativas entre las absorbancias a 24, 48 y 72 h en el tratamiento bajo luz o en oscuridad (Fig. 2D).

Los porcentajes de remoción del VC (**Fig. 3C, D**) fueron similares a los de VM, con eficiencias máximas de 94.8 % y 96.9 % en la concentración de 5 mg/L bajo luz y oscuridad, respectivamente (**Fig. 3C**). En la concentración de 10 mg/L (**Fig. 3D**) las eficiencias de remoción a las 72 h fueron ligeramente mayores con porcentajes de 96.4 % (luz) y 97.7 % (oscuridad).

### Remoción del colorante textil comercial azul marino por *L. minuta*

Se encontraron diferencias significativas a las 24 h del tratamiento para la concentración de 80 mg/L de AM en comparación con el testigo (**Fig. 2E**). Para el caso de la concentración de 240 mg/L (**Fig. 2F**), los resultados demuestran una disminución significativa de la absorbancia también a partir de las 24 h tanto para el tratamiento bajo luz ( $p < 0.001$ ) como en oscuridad ( $p < 0.001$ ). Además, también hubo diferencias significativas en el tiempo de contacto de 168 h entre los tratamientos bajo luz y oscuridad ( $p > 0.001$ ), siendo mayor la remoción bajo luz. En cuanto a la mayor concentración probada, de 800 mg/L, la mayor disminución en la absorbancia se encontró en el máximo tiempo de contacto (168 h) para ambas condiciones de tratamiento (**Fig. 2G**).

Para el tratamiento bajo luz y oscuridad, la máxima eficiencia de remoción fue de 78.5 % y de 75.1 %, respectivamente; a una concentración de 80 mg/L en un tiempo de contacto de 72 h (**Fig. 3E**). Para las concentraciones de 240 mg/L y 800 mg/L, la mayor remoción fue observada a las 168 h en ambas concentraciones. Para la primera (240 mg/L) los porcentajes de remoción fueron de 87.8 % (tratamiento bajo luz) y 74.2 % (tratamiento bajo oscuridad) (**Fig. 3F**) y, para la segunda (800 mg/L) de 93.2 % (tratamiento en luz) y 86.4 % (tratamiento en oscuridad) (**Fig. 3G**).

### Análisis de los parámetros físicos y químicos

La fitorremediación implica la absorción del colorante. Este proceso depende de la biomasa de la planta, el pH, la temperatura y la concentración del colorante. El pH afecta la movilidad y disponibilidad de los iones, de esta forma afecta el crecimiento de la planta, así como la absorción de otros compuestos (Torbatí 2017). Por lo anterior, en el presente trabajo se evaluaron los efectos de la temperatura y el pH para la remoción de los colorantes investigados.

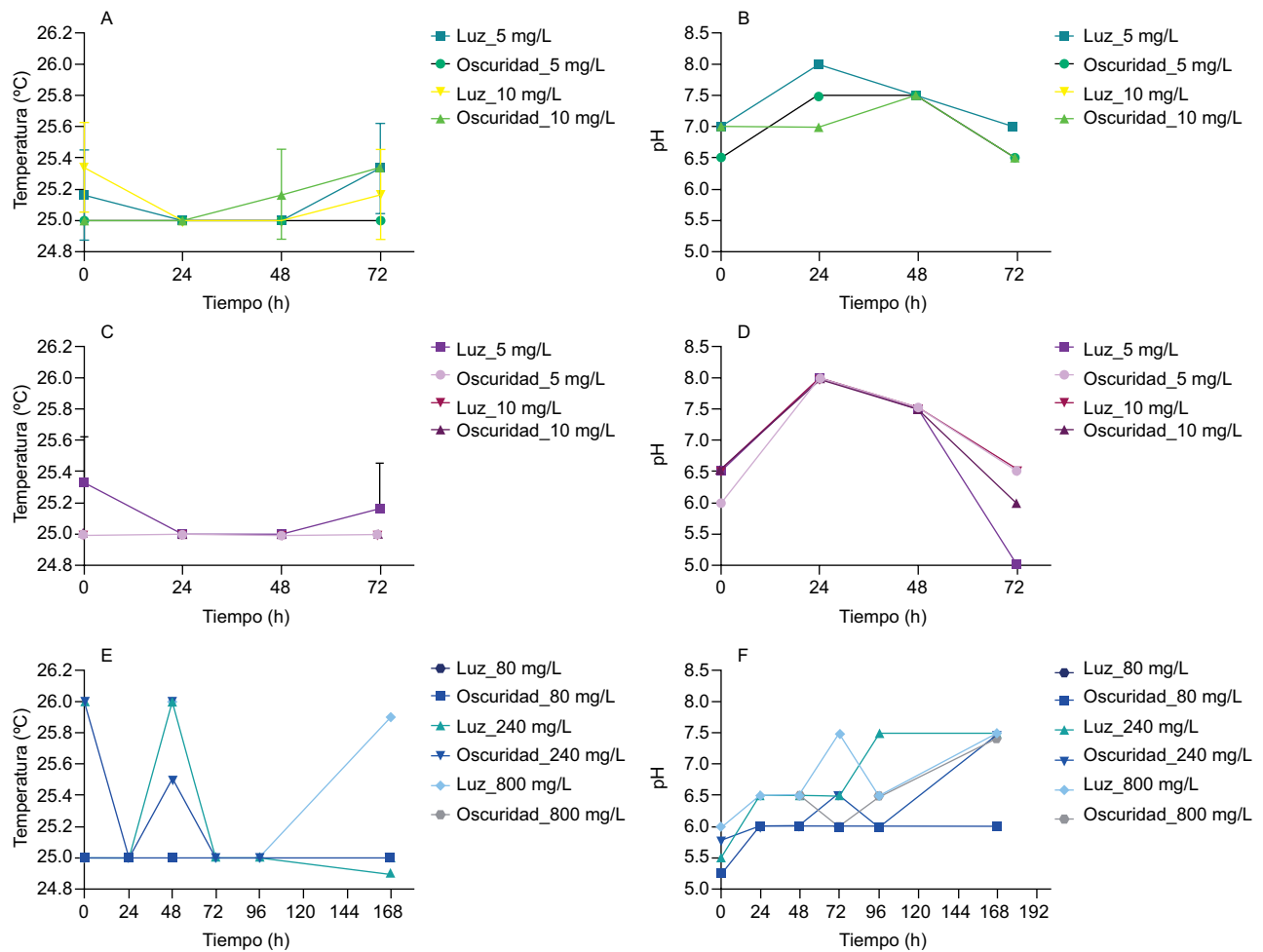
En la **figura 4** se muestra la temperatura y el pH en todos los tiempos de muestreo. Las temperaturas se mantuvieron estables entre 25 °C y 26 °C (**Fig. 4A, C, E**). Esta temperatura es considerada óptima para

el crecimiento de la planta. El pH óptimo para el crecimiento de *Lemna* spp. se encuentra entre los valores de 5 y 7. Sin embargo puede tolerar rangos de pH desde 3 hasta 10 (Vymazal 2008). En este estudio, la mayoría de las soluciones se encontraba en un pH ligeramente por debajo de la neutralidad, 6.5 a 7 para el VM, 6 a 6.5 para el VC y 5.3 a 6 para el AM (**Fig. 4B, D, F**). Sin embargo, a las 24 h se observó un ligero aumento en el pH, con valores de 7.5 a 8 para el VM, 8 para el VC y 6 a 6.5 para el AM. Estos valores fueron disminuyendo a partir de las 48 h hasta el tiempo final evaluado, llegando nuevamente a una ligera acidificación, con valores de pH de 6.5 a 7 para el VM, y de 5 a 6.5 para el VC. En la solución del colorante AM (**Fig. 4F**) el pH se mantuvo cercano a la neutralidad en las concentraciones de 240 y 800 mg/L (pH 7.5).

## DISCUSIÓN

Las plantas de la subfamilia Lemnoideae (familia Araceae), conocidas comúnmente como lentejas de agua, son plantas hidrofíticas extensamente utilizadas para la fitorremediación ya que cuentan con varias ventajas ecotoxicológicas, tales como un tamaño pequeño, una morfología simple, un alto rango de crecimiento, de fácil cultivo, se adaptan fácilmente a diferentes condiciones ambientales y tienen una alta sensibilidad a una variedad de contaminantes (Sharma et al. 2023). En este estudio, *L. minuta* mostró una eficiencia de remoción entre 97 y 98 % del colorante VM a 5 y 10 mg/L. Estos resultados concuerdan con un estudio previo para otra especie de la misma subfamilia Lemnoideae (Aracea) *L. minor*, donde se observó que cinco gramos de la planta pueden remover entre 96 y 97 % para el VM y el cristal violeta (CV) en concentraciones de 40 mg/L en tiempos de tratamiento de 14 días (Török et al. 2015). Otro estudio, determinó que después de un tratamiento de siete días con *Nasturtium officinale* (berro), esta planta fue capaz de remover 10 mg/L de VM en un porcentaje mayor a 90% (Torbatí 2017). Nuestro estudio demuestra que *L. minuta* es capaz de remover la misma concentración de VM en porcentajes similares (~90 %) a partir de las 24 h de tiempo de contacto.

Algunos estudios han demostrado que *L. minor* tiene como mecanismo de degradación la fitoextracción o fitoacumulación y la fitodegradación tanto para el VM como para el CV (Torbatí 2015, Török et al. 2015, Torbatí 2017, Sharma et al. 2023). De hecho, se ha sugerido que el VM puede degradarse hasta



**Fig. 4.** Temperatura (A, C, E) y pH (B, D, F) de las soluciones coloreadas a los diferentes tiempos de muestreo a través del tratamiento con *L. minuta*. (A, B) Solución de verde de malaquita (5 mg/L y 10 mg/L). (C, D) Solución de acetato de violeta de cresilo (5 mg/L y 10 mg/L). (E, F) Solución del colorante comercial azul marino (80 mg/L, 240 mg/L, 800 mg/L).

dióxido de carbono y agua mediante el tratamiento con *L. minuta* (Torbatí 2015). Se ha observado que el VM presenta cierta toxicidad para las plantas, ya que su contenido de clorofila a, b, y carotenoides se reducen en presencia de este colorante, sin embargo, la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) y la de la peroxidasa (POD) se elevan cuando la planta se encuentra en presencia de 10 a 20 mg/L de VM, dando como resultado la protección contra especies reactivas de oxígeno (ROS), así como la tolerancia de la planta a este tipo de contaminante (Torbatí 2015).

Además, se ha sugerido el mecanismo de fitoadsorción para los colorantes triarilmetano, como el colorante azul de metileno. En este mecanismo *L. minuta* adsorbe azul de metileno a través de enlaces de hidrogeno e interacciones electrostáticas (Imron et al. 2021). El grupo carboxilo y el grupo hidroxilo

son los principales sitios de adsorción en *L. minuta*. El  $N^+$  en la molécula del colorante es atraído al  $OH^-$  en la molécula de celulosa a través de enlaces hidrógeno. Debido a interacciones electrostáticas el  $N^+$  en la molécula de azul de metileno es atraído por el  $O^-$  en la molécula de celulosa en condiciones ácidas y básicas. Al mismo tiempo, la biodegradación del colorante también puede realizarse vía rizobacterias, donde el mecanismo de degradación se realiza por desulfuración y desnitrificación llegando hasta dióxido de carbono, agua, ion nitrato y dióxido de nitrógeno (Imron et al. 2021). Debido a que el colorante VM también es del tipo triarilmetano con  $N^+$  en su molécula, y que *L. minuta* es de la misma subfamilia que *L. minuta*, podría suponerse un mecanismo de adsorción similar del azul de metileno por *L. minuta*.

En cuanto al colorante VC, los porcentajes de remoción estuvieron entre 94 y 97 % a 5 mg/L. A nuestro conocimiento, no se han reportado estudios previos para la remoción de este colorante en solución mediante fitorremediación. Sin embargo, un estudio determinó una remoción cercana al 100 % de un colorante similar al VC, el azul brillante de cresilo (BCB), mediante la adsorción por carbón activado ácido sintetizado a partir de residuos de jengibre (Pandey et al. 2024). Debido a que ambos colorantes son del tipo fenoxacina, podría sugerirse el proceso de bioadsorción para la eliminación del VC mediante *L. minuta*.

El colorante azul marino comercial es una mezcla de colorantes, por lo que inicialmente se generó un escaneo del espectro de absorbancias (ABS) contra longitudes de onda ( $\lambda$ , en nanómetros, nm) de una solución del colorante AM para determinar el pico más alto de absorbancia en términos de  $\lambda$ , mediante un espectrofotómetro en UV/Vis (Hach DR/4000 L). La longitud resultante fue de 570 nm y la remoción de colorantes fue determinada bajo esta longitud de onda. En este colorante, las eficiencias de remoción estuvieron entre 75 y 78 % a 80 mg/L a las 72 h del tiempo de contacto, mientras que la remoción para 240 mg/L fue de 74 a 86% y de 86 a 93 % a 800 mg/L en 168 h de tiempo de contacto. Estos resultados concuerdan con los de un estudio realizado por Sivakumar et al. (2015), en el que se determinó un porcentaje de remoción de color cercano a 88.2% de aguas residuales provenientes de la industria textil utilizando *L. minuta* como adsorbente en un tiempo de contacto de seis días. Además, este estudio determinó porcentajes de remoción de 96.8 %, 97.1 % y 97.4 %, para los colorantes negro remazol 5, violeta reactivo 1 y amarillo reactivo 145, respectivamente. Asimismo, Sivakumar et al. (2018), compararon la capacidad de remoción de colorantes provenientes de aguas residuales de la industria textil por *L. minor* y *L. minuta* observando porcentajes de remoción similares a los de nuestro estudio, con eficiencias 82.25 % para *L. minor* y de 89.5 % para *L. minuta*.

Un escenario similar fue documentado por Khataee et al. (2012) para el colorante azul ácido (AB92), donde cerca de 80 % del colorante fue removido por *L. minor* en una concentración de 10 mg/L y una biomasa de 4 g de la planta a los seis días de tratamiento. En este trabajo se sugiere que la decoloración se realiza por un proceso de bioadsorción entre *L. minor* y AB92. La toxicidad de este colorante sobre *L. minor* también fue probada, reportando que es un inhibidor del crecimiento de la planta. Otro estudio

tuvo efectos similares al probar el colorante azul brillante R (Cleuvers y Ratte 2002).

De manera similar, en el estudio de Khataee et al. (2012) se encontró que la presencia del colorante tiene un efecto reductor aproximado de 70 % de la cantidad de los pigmentos fotosintéticos carotenoides en presencia de 20 mg/L del AB92. Sin embargo, la actividad de las SOD y la catalasa (CAT) se ven aumentadas debido a un efecto protector contra ROS, lo que permite a la planta tolerar el contaminante. En este estudio también se reportó que el AB92 (colorante de tipo azoico) puede escindirarse de forma simétrica o asimétrica, con un sitio activo disponible para diferentes enzimas vegetales que pueden estar involucradas en su degradación (Kalme et al. 2007). Por lo anterior podría suponerse que algunos de los colorantes tipo azo, tales como el azul directo 151, negro directo 22, azul 102, azul directo 71 y amarillo directo 50, que conforman el colorante textil, podrían degradarse de la misma manera. Igualmente, la degradación del VC también podría estar dirigida por enzimas vegetales.

En otro estudio (Kabra et al. 2012), se reportó la fitorremediación de efluentes textiles mediante *Glandularia pulchella* (verbena morada), así como de los colorantes: escarlata RR (SRR), rubí GFL (RGFL), azul brillante R (BBR), azul marino 2R (NB2R) y rojo HE3B (FHE3B). De igual forma, otros autores han reportado el tratamiento de efluentes textiles por plantas nativas como *Blumea malcolmii*, *Rheum rhabarbarum*, *Typhonium flagelliforme*, *Rumex hydrolypathum*, *Phragmites australis*, *Tagetes patula*, *Aster amellus*, *Portulaca grandiflora* y *Gaillardia grandiflora* (Aubert y Schwitzguébel 2004, Davies et al. 2005, Ong et al. 2010, Chandanshive et al. 2018), por lo que la fitorremediación parece ser una técnica prometedora para la remoción de colorantes textiles. Por otra parte, aun cuando los valores de remoción del AM no alcanzaron porcentajes mayores a 90 %, sí redujeron en gran medida el colorante con la misma cantidad de planta (5 g), ya que las concentraciones utilizadas (80 mg/L, 240 mg/L y 800 mg/L) son significativamente mayores a las concentraciones probadas para los colorantes de uso de laboratorio (5 mg/L y 10 mg/L).

Los porcentajes de remoción del tratamiento bajo luz en comparación con el tratamiento bajo oscuridad fueron muy similares entre sí en todos los colorantes a todas las concentraciones probadas (**Fig. 3**), excepto para los tratamientos de AM en 240 mg/L (54.9 % vs. 35.6 %), donde los porcentajes de remoción fueron mayores para el tratamiento bajo luz, sugiriendo que a concentraciones elevadas del colorante la luz solar

puede favorecer la fotodegradación y, con ello, la eficiencia de decoloración del tinte comercial bajo estas condiciones.

La fitodegradación de los colorantes mediante *L. minuta* puede deberse a los procesos de rizofiltración, fitodegradación y fitoextracción o fitoacumulación de manera simultánea. En la rizofiltración la eliminación de sustancias tóxicas se realiza a través de las raíces de las plantas, ya que pueden adsorber, absorber, concentrar y precipitar de forma insoluble el contaminante sobre raíces y otros órganos sumergidos de las plantas acuáticas tolerantes (Jadia y Fulekar 2009). En el caso de la fitodegradación, los contaminantes orgánicos se absorben por transporte pasivo por la planta, se metabolizan y se rompen en compuestos menos dañinos que se distribuyen en el tejido de la planta (Kafle et al. 2022). Finalmente, en el caso de la fitoextracción o fitoacumulación, los contaminantes inorgánicos se absorben por las raíces de las plantas, se translocan a las hojas y se depositan en vacuolas, pared celular, membrana celular y otras partes inactivas metabólicamente en el tejido de las plantas (Suman et al. 2018).

En cuanto al pH de las soluciones, todas las soluciones se encontraron inicialmente con un pH ligeramente por debajo de la neutralidad. A las 24 h del proceso de fitorremediación se observó un aumento en el pH, sin embargo, este disminuyó nuevamente al tiempo final del muestreo, quedando prácticamente en los mismos valores de pH iniciales para el VM y el VC. Para el colorante AM, el pH se mantuvo cercano a la neutralidad al final del ensayo. Esto concuerda con estudios previos (Török et al. 2015) donde se observó que *L. minor* tiene un efecto amortiguador en el pH de las soluciones coloreadas durante el proceso de fitorremediación, demostrando su habilidad para estabilizar niveles de pH que facilitan la remoción de diversos colorantes en soluciones acuosas. El pH de las soluciones juega un rol principal en los procesos de bioadsorción, ya que afecta la ionización de las moléculas de colorante y la carga de la superficie de la biomasa. Esto concuerda con el estudio de Movafeghi et al. (2012) donde se observó que las soluciones del colorante rojo básico 46 con el pH resultante de la disolución, no necesitaban agentes acidificantes o basificantes adicionales para mantener su estabilidad, sugiriendo que *L. minor* puede regular los niveles eficientes de pH durante el proceso de remoción. Además, este estudio sugiere que *L. minuta* también tiene la capacidad de mantener la estabilidad de los niveles de pH durante el proceso de remoción de colorantes. Esta capacidad inherente de solución amortiguadora del pH es importante

para mitigar los efectos adversos de fluctuaciones extremas del pH en aguas contaminadas y el proceso de fitorremediación de estas, mejorando la eficiencia de bioadsorción (Movafeghi et al. 2012). Este efecto amortiguador puede estar relacionado con la asimilación de nutrientes, la captura del dióxido de carbono y la liberación de iones. Al realizar la fotosíntesis, la planta consume dióxido de carbono del agua, por lo que se consumen iones hidrogeno ( $H^+$ ) del agua, lo que resulta en aumento del pH de la solución. Por otra parte, la absorción de nitratos ( $NO_3^-$ ) como fuente de nitrógeno también puede llevar a la liberación de hidróxidos ( $OH^-$ ) para mantener la neutralidad eléctrica, lo que contribuye a la alcalinización del medio acuoso (Sigcau et al. 2022). Además, el aumento del pH también puede deberse en parte a la absorción celular del fosfato (Paterson et al. 2020). Sin embargo, a través de la respiración celular, la planta libera  $CO_2$  al agua como subproducto, así como protones al medio ( $H^+$ ). Este proceso forma ácido carbónico ( $H_2CO_3$ ), disminuyendo el pH del agua nuevamente.

Este es el primer estudio donde se prueba la remoción de los colorantes: verde de malaquita, acetato de violeta de cresilo y el colorante comercial azul marino en solución acuosa mediante *L. minuta*.

## CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que *Lemna minuta* es una planta acuática con un alto potencial para la fitorremediación de aguas contaminadas con colorantes. La planta tiene la capacidad de remover los colorantes: verde de malaquita y acetato de violeta de cresilo, logrando porcentajes de remoción cercanos al 100 % en 72 h de contacto. Además, *L. minuta* mostró una notable eficacia en la remoción del colorante textil azul marino en concentraciones altas, alcanzando una remoción superior a 80 % en 168 h. La eficiencia de remoción fue consistentemente alta tanto en condiciones de luz como de oscuridad. Estos hallazgos confirman la capacidad de *L. minuta* como una alternativa biológica y sostenible para el tratamiento de aguas residuales industriales.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración y asesoría técnica de la IBQ. Laura Yamamoto Flores, la Biól. Adriana Cecilia Moreno Flores y la estudiante de la Licenciatura en Biología Brenda Rodríguez García. Agradecemos también a la

Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) y a la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el apoyo en la realización de este proyecto.

## REFERENCIAS

- Al-Baldawi I.A., Abdullah S.R.S., Anuar N. y Hasan H.A. (2018). Phytotransformation of methylene blue from water using aquatic plant (*Azolla pinnata*). *Environmental Technology and Innovation* 11, 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2018.03.009>
- Al-Baldawi I.A., Yasin S.R., Jasmin S.S., Abdullah S.R.S., Almansoori A.F. y Ismail N.I. (2022). Removal of copper by *Azolla filiculoides* and *Lemna minor*: phytoremediation potential, adsorption kinetics and isotherms. *Heliyon* 8 (11), e11456. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11456>
- Al Farraj D.A., Elshikh M.S., Al Khyalaifi M.M., Hadibarata T., Yunirato A. y Syafiuddin A. (2019). Biotransformation and detoxification of antraquinone dye green 3 using halophilic *Hortaea* sp. *International Biodeterioration and Biodegradation* 140, 72-77. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.03.011>
- Al-Tohamy R., Ali S.S., Li F., Okasha K.M., Mahmoud Y.A.G., Elsamahy T., Jio H., Fu Y. y Sun J. (2022). A critical review on the treatment of dye-containing wastewater: ecotoxicological and health concerns of textile dyes and possible remediation approaches for environmental safety. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 231, 113160 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113160>
- Almuktar S.A.A.A.N., Abed S.N. y Scholz M. (2018). Wetlands for wastewater treatment and subsequent recycling of treated effluent: A review. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 23595-23623. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2629-3>
- Ardila-Leal L.D., Poutou-Piñales R.A., Pedroza-Rodríguez A.M. y Quevedo-Hidalgo B.E. (2021). A brief history of colour, the environmental impact of synthetic dyes and removal by using lacasses. *Molecules* 26 (13), 3813. <https://doi.org/10.3390/molecules26133813>
- Aubert S. y Schwitzguébel J. (2004). Screening of plant species for the phytotreatment of wastewater containing sulfonated anthraquinones. *Water Research* 38 (16), 3569-3575. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.04.057>
- Bayrakceken F. y Yegin K. (2012). Fluorescence, decay time, and structural change of laser dye cresil violet in solution due to microwave irradiation at GSM 900/1800 mobile phone frequencies. *International Journal of Photoenergy* 2012 (1), 965426. <https://doi.org/10.1155/2012/965426>
- Castillo-Suárez L.A., Sierra-Sánchez A.G., Linares-Hernández I., Martínez-Miranda V. y Teutli-Sequeira E.A. (2023). A critical review of textile industry wastewater: Green technologies for the removal of indigo dyes. *International Journal of Environmental Science and Technology* 20, 1-38. <https://doi.org/10.1007/s13762-023-04810-2>
- Ceschin S., Crescenzi M. y Iannelli M.A. (2020). Phytoremediation potential of the duckweeds *Lemna minuta* and *Lemna minor* to remove nutrients from treated waters. *Environmental Science and Pollution Research (international)* 27 (13), 15806-15814. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08045-3>
- Chandanshive V.V., Kadam S.K., Khandare R.V., Kurade M.B., Jeon B.H., Jadhav J.P. y Govindwar S.P. (2018). In situ phytoremediation of dyes from textile wastewater using garden ornamental plants, effect on soil quality and plant growth. *Chemosphere* 210, 968-76. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.064>
- Chiudioni F., Trabace T., Di Gennaro S., Palma A., Manes F. y Mancini M. (2017). Phytoremediation applications in natural condition and in mesocosm: the uptake of cadmium by *Lemna minuta* Kunth, a non-native species in Italian watercourses. *International Journal of Phytoremediation* 19 (4), 371-376. <https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1225290>
- Cleuvers M. y Ratte H.T. (2002). Phytotoxicity of coloured substances: Is *Lemna* duckweed an alternative to the algal growth inhibition test?. *Chemosphere* 49 (1), 9-15. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(02\)00193-5](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(02)00193-5)
- Cortazar-Martínez A., González-Ramírez C.A., Coronel-Olivares C., Escalante-Lozada J.A., Castro-Rosas J. y Villagómez-Ibarra J.R. (2012). Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. *Universidad y Ciencia* 28 (2), 187-199.
- Davies L., Carias C., Novais J. y Martins-Dias S. (2005). Phytoremediation of textile effluents containing azo dye by using *Phragmites australis* in a vertical flow intermittent feeding constructed wetland. *Ecological Engineering* 25 (5), 594-605. <https://doi.org/10.1016/j.ecoeng.2005.07.003>
- Dias A.D., Sampaio A. y Bezerra R.M. (2007). Environmental applications of fungal and plant systems: decolorisation of textile wastewater and related dyestuffs. En: *Environmental Bioremediation Technologies*. (S.N. Singh y R.D. Tripathi, Eds.) Springer Berlin, Alemania, pp. 445-463. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-34793-4\\_19](https://doi.org/10.1007/978-3-540-34793-4_19)
- Ekperusi A.O., Nwachukwu E.O. y Sikoki F.D. (2020). Assessing and modelling the efficacy of *Lemna paucicostata* for the phytoremediation of petroleum

- hydrocarbons in crude oil-contaminated wetlands. *Scientific Reports* 10, 8489. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65389-z>
- Hernández-Chávez M., Mejia-Guerrero M. I., Ildefonso-Ojeda B., Contreras-Bárbara J. R., Falcón-León, M. P. y Fabila-Bustos D. A. (2024). Adsorción y fotólisis de verde de malaquita sobre arcilla caolínica. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI* 12, 117-121. <https://doi.org/10.29057/icbi.v12iEspecial5.13847>
- Imron M.F., Ananta A.R., Ramadhani I.S., Kurniawan S.B. y Sheikh-Abdullah S.R. (2021). Potential of *Lemna minor* for removal of methylene blue in aqueous solution: Kinetics, adsorption mechanism, and degradation pathway. *Environmental Technology and Innovation* 24, 101921. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101921>
- Imron M.F., Kurniawan S.B., Soegianto A. y Wahyudianto F.E. (2019). Phytoremediation of methylene blue using duckweed (*Lemna minor*). *Heliyon* (8), e02206. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02206>
- Ismail M., Akhtar K., Khan M.I., Kamal T., Khan M.A., Asiri A.M., Seo J. y Khan S.B. (2019). Pollution, toxicity and carcinogenicity of organic dyes and their catalytic bio-remediation. *Current Pharmaceutical Design* 25 (34), 3645-3663. <https://doi.org/10.2174/1381612825666191021142026>
- Jadhav J.P., Parshetti G.K., Kalme S.D. y Govindwar S.P. (2007). Decolourization of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463. *Chemosphere* 68 (2), 394-400. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.087>
- Jadia C.D. y Fulekar M.H. (2009). Phytoremediation of heavy metals: recent techniques. *African Journal of Biotechnology* 8 (6), 921-928.
- Kabra A.N., Khandare R.V., Waghmode T.R. y Govindwar S.P. (2012). Phytoremediation of textile effluent and mixture of structurally different dyes by *Glandularia pulchella* (Sweet) Tronc. *Chemosphere* 87 (3), 265-272. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.052>
- Kafle A., Timilsina A., Gautam A., Adhikari K., Bhattarai A. y Aryal N. (2022). Phytoremediation: mechanisms, plant selection and enhancement by natural and synthetic agents. *Environmental Advances* 8, 100203. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100203>
- Kalme S.D., Parshetti G.K., Jadhav S.U. y Govindwar S.P. (2007). Biodegradation of benzidine based dye direct blue-6 by *Pseudomonas desmolyticum* NCIM 2112. *Bioresource Technology* 98 (7), 1405-1410. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.023>
- Kaur L. y Kanwar N. (2022). Duckweed: A model for phytoremediation technology, *The Holistic Approach to Environment* 12 (1), 39-58. <https://doi.org/10.33765/thate.12.1.4>
- Khataee A.R., Movafeghi A., Torbati S., Salehi-Lisar S.Y. y Zarei M. (2012). Phytoremediation potential of duckweed (*Lemna minor* L.) in degradation of C.I. Acid Blue 92: Artificial neural network modeling. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80, 291-298. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.03.021>
- Lin Z.Z., Zhang H.Y., Peng A.H., Lin Y.D., Li L. y Huang Z.Y. (2016). Determination of malachite green in aquatic products based on magnetic molecularly imprinted polymers. *Food Chemistry* 200, 32-37. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.001>
- Moumen A., Belhocine Y., Sbei N., Rahali S., Ali F.A.M., Mechati F., Hamdaoui F. y Seydou M. (2022). Removal of malachite green dye from aqueous solution by catalytic wet oxidation technique using Ni/Kaolin as catalyst. *Molecules* 27 (21), 7528. <https://doi.org/10.3390/molecules27217528>
- Movafeghi A., Khataee A.R., Torbati S., Zarei M. y Lisar S.Y. (2012). Bioremoval of C.I. basic red 46 an azo dye from contaminated water by *Lemna minor* L.: Modeling of key factor by neural network. *Environmental Progress and Sustainable Energy* 2 (4), 1082-1089. <https://doi.org/10.1002/ep.11712>
- NCBI (2025a). PubChem compound summary for CID 11294, malachite green [en línea]. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malachite-Green\\_08/02/2025](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malachite-Green_08/02/2025)
- NCBI (2025b). PubChem compound summary for CID 82686, cresyl violet acetate [en línea]. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cresyl-violet-acetate\\_08/02/2025](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cresyl-violet-acetate_08/02/2025)
- NCBI (2025c). PubChem compound summary for CID 53488190, direct blue 86 [en línea]. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Direct-blue-86\\_08/02/2025](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Direct-blue-86_08/02/2025)
- NCBI (2025d). PubChem compound summary for CID 20427, direct blue 71 [en línea]. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Direct-Blue-71\\_08/02/2025](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Direct-Blue-71_08/02/2025)
- NCBI (2025). PubChem compound summary for CID 22953 (direct blue 151) [en línea]. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22953\\_08/02/2025](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/22953_08/02/2025)
- NCBI (2025f). PubChem compound summary for CID 22980 (direct black 22) [en línea]. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/c.i.-direct-black-22\\_08/02/2025](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/c.i.-direct-black-22_08/02/2025)
- NCBI (2025g). PubChem compound summary for CID 112153, 1,2-propanediol, 3-(ethyl(3-methyl-4-((5-nitro-2-thiazolyl)azo)phenyl)amino) [en línea]. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Disperse-Blue-102\\_08/02/2025](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Disperse-Blue-102_08/02/2025)
- NCBI (2025h). PubChem compound summary for CID 18575, direct yellow 50 [en línea]. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Direct-Yellow-50\\_08/02/2025](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Direct-Yellow-50_08/02/2025)

- NCBI (2025i). PubChem compound summary for CID 135442957, direct red 23 [en línea]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Direct-Red-23> 08/02/2025
- NCBI (2025j). PubChem compound summary for CID 10215, indigo (blue 201) [en línea]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Indigo> 08/02/2025
- OECD/OCDE (2006). OECD guidelines for the testing of chemicals *Lemna* sp. growth inhibition test, test no. 221. Section 2, Organisation for Economic Cooperation and Development. París, Francia, 22 pp.
- Ong S., Uchiyama K., Inadama D., Ishida Y. y Yamagiwa K. (2010). Treatment of azo dye acid orange 7 containing wastewater using up-flow constructed wetland with and without supplementary aeration. *Bioresource Technology* 101 (23), 9049-9057. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.034>
- Ostrowski P.P., Fairn G.D., Grinstein S. y Johnson D.E. (2016). Cresyl violet: A superior fluorescent lysosomal marker. *Traffic* 17 (12), 1313-1321. <https://doi.org/10.1111/tra.12447>
- Ostrowski P.P., Roth Z. y Grinstein S. (2020). Labeling acidic compartments of neutrophils with cresyl violet. En: *Neutrophil. Methods in molecular biology* (N.J. Clifton, M. Quinn y F. DeLeo, Eds.), Humana, Nueva York, EUA, pp. 207-213. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0154-9\\_15](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0154-9_15)
- Paisio C.E., Fernandez M., González P.S., Talano M.A., Medina M.I. y Agostini E. (2018). Simultaneous phytoremediation of chromium and phenol by *Lemna minuta* Kunth: A promising biotechnological tool. *International Journal of Environmental Science and Technology* 15 (1), 37-48. <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1368-1>
- Pandey V., Singh S.B., Gupta K.M., Afroz M., Agrahari S., Singh H. y Tandon P.K. (2024). Removal of the cationic dyes with activated carbon obtained from low-cost ginger waste. *Materials Today: Proceedings* 106, 168-176. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.12.056>
- Paterson J.B., Camargo-Valero M.A. y Baker A. (2020). Uncoupling growth from phosphorus uptake in *Lemna*: implications for use of duckweed in wastewater remediation and P recovery in temperate climates. *Food and Energy Security* 9 (4), e244. <https://doi.org/10.1002/fes3.244>
- Periyasamy A.P. (2025). A review of bioremediation of textile dye containing wastewater. *Clear Water* (4), 100092. <https://doi.org/10.1016/j.clwat.2025.100092>
- Rai M.S., Bhat P.R., Prajna P., Jayadev K. y Rao P.V. (2014). Degradation of malachite green and congo red using *Aloe barbadensis* mill extract. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3 (4), 330-40.
- Ramírez-Barbativa D.F. (2019). Adaptación del método acreman para la limpieza de plantas de *Lemna minuta* (Araceae: Lemnoideae). *Revista Colombiana de Biotecnología* 21 (1), 71-76. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.53219>
- Ramírez-Castillo F.Y., Guillén-Padilla D.E., Méndez-Sandate C.I., Guerrero-Barrera A.L. y Avelar-González F.J. (2024). Phytoremediation of Methylene Blue and Congo Red by duckweed (*Lemna minor*). *DYNA* 91 (232), 9-15. <https://doi.org/10.15446/dyna.v91n232.110906>
- Rousselet E., Kriz J. y Seidah N.G. (2012). Mouse model of intraluminal MCAO: Cerebral infarct evaluation by cresyl violet staining. *Journal of Visualized Experiments* (69), 4038.
- Sánchez-Guillón E. y Galán de Mera A. (2014). *Lemna minuta* (Araceae, Lemneae), nuevo xenófito para la flora de Andalucía. *Acta Botánica Malacitana* 39, 246-248. <https://doi.org/10.24310/abm.v39i1.2609>
- Sharma J., Sharma S. y Soni, V. (2023). Toxicity of malachite green on plants and its phytoremediation: a review. *Regional Studies in Marine Science* 62, 102911. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2023.102911>
- Sigcau K., van Rooyen I.L., Hoek Z., Brink H.G. y Nicol W. (2022). Online control of *Lemna minor* L. phytoremediation: using pH to minimize the nitrogen outlet concentration. *Plants* 11 (11), 1456. <https://doi.org/10.3390/plants11111456>
- Sivakumar D., Anand R., Rajaganapathy J. y Balasubramanian M. (2015). Textile industry wastewater color removal using *Lemna minuta* L. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences* 8 (3), 563-570
- Sivakumar D., Anand R. y Saral A. (2018). Textil industry wastewater color removal using *Lemna minor* L and *Lemna minuta* L. *International Journal of Engineering and Technology* 7, 160-162. <https://doi.org/10.14419/ijet.v7i3.34.18937>
- Sorour F.H., Aboeleneen N.M., Abd El-Monem N.M., Ammar Y.A. y Mansour R.A. (2024). Removal of malachite green from wastewater using date seeds as natural adsorbent; isotherms, kinetics, thermodynamic, and batch adsorption process design. *International Journal of Phytoremediation* 26 (8), 1321-1335. <https://doi.org/10.1080/15226514.2024.2316315>
- Suman J., Uhlik O., Viktorova J. y Macek T. (2018). Phytoextraction of heavy metals: a promising tool for clean-up of polluted environment? *Frontiers in Plant Science* 9, 1476 <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01476>
- Sun W., Chen L., Tian J., Wang J. y He S. (2013). Degradation of a monoazo dye alizarin yellow GG in aqueous solutions by gamma irradiation: Decolorization and biodegradability enhancement. *Radiation Physics and Chemistry* 83, 86-89. <http://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2012.10.014>

- Tizazu S., Tesfaye G., Andualem B., Wang A. y Guadie A. (2022). Evaluating the potential of thermo-alkaphilic microbial consortia for azo dye biodegradation under anaerobic-aerobic conditions: Optimization and microbial diversity analysis. *Journal of Environmental Management* 323, 116235. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116235>
- Torbati S. (2015). Feasibility and assessment of the phytoremediation potential of duckweed for triaryl-methane dye degradation with the emphasis on some physiological responses and effect of operational parameters. *Turkish Journal of Biology* 39 (3), 438-446. <http://doi.org/10.3906/biy-1411-23>
- Torbati S. (2017). Feasibility study on phytoremediation of malachite green dye from contaminated aqueous solutions using watercress (*Nasturtium officinale*). *Iranian Journal of Health and Environment* 9 (4), 503-516.
- Török A., Buta E., Indolean C., Tonk S., Silaghi-Dumitrescu L. y Majdik C. (2015). Biological removal of triphenylmethane dyes from aqueous solution by *Lemna minor*. *Acta Chimica Slovenica* 62 (2), 452-461. <http://doi.org/10.17344/acsi.2014.1109>
- Türeyen K., Vemuganti R., Sailor K.A. y Dempsey R.J. (2004). Infarct volume quantification in mouse focal cerebral ischemia: a comparison of triphenyltetrazolium chloride and cresyl violet staining techniques. *Journal of Neuroscience Methods* 139 (2), 203-207. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.04.029>
- Vymazal J. (2008). Constructed wetlands, surface flow. En: *Encyclopedia of Ecology*. (S.E. Jørgensen y B.D. Fath, Eds.) Academic Press, Amsterdam, Países Bajos, 765-776 pp. <https://doi.org/10.1016/B978-008045405-4.00079-3>
- Wibowo Y.G., Syahnur M.T., Al-Azizah P.S., Gintha D.A., Gifita-Lululangi B.R. y Sudibyo. (2023) Phytoremediation of high concentration of ionic dyes using aquatic plant (*Lemna minor*): A potential eco-friendly solution for wastewater treatment. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management* 20, 100849. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2023.100849>
- Zhao Q. y Wei J. (2020). Zero-waste recycling method for textile dyeing sludge by magnetizing roasting-magnetic separation process and ceramic filter preparation. *Chemical Papers* 74, 4389-4399. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01249-4>
- Zhou Y., Stepanenko A., Kishchenko O., Xu J. y Borisjuk N. (2023). Duckweeds for phytoremediation of polluted water. *Plants* 12 (3), 589. <https://doi.org/10.3390/plants12030589>