

Determinación de la capacidad de remoción de cadmio por *Salvinia auriculata* Aubl. en agua contaminada

Determination of the capacity of removal of cadmium by *Salvinia
auriculata* Aubl. in polluted water

Melanie Ayala-Luna^{1*}, Beatriz Pernía² & Xavier Cornejo³

¹Consultora egresada de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av.
Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.

²Docente investigador de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av.
Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.

³Herbario GUAY, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez
Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.

Recibido 4 de agosto 2019; recibido en forma revisada 26 de agosto 2019, aceptado 3 de octubre 2019
Disponible en línea 20 de diciembre 2019

Resumen

El cadmio es considerado uno de los metales pesados más peligrosos, su alta toxicidad ha generado diversos problemas al ambiente y la salud de los seres vivos. El objetivo del presente trabajo fue demostrar la capacidad de remoción de Cd por *Salvinia auriculata* en agua contaminada y los efectos morfológicos a causa de su exposición. Para esto, se expuso *S. auriculata* a 5 tratamientos de dilución de 0, 0.25, 0.5, 1 y 2 mg/L Cd durante 8 días. Al finalizar el bioensayo se determinó la biomasa, el porcentaje de tolerancia, la longitud promedio de las hojas y se tomaron fotografías de las mismas. Se analizó las muestras de agua y tejido vegetal mediante espectrofotometría de absorción atómica de horno de grafito. Los resultados de remoción encontrados fueron de 64%, 56%, 55% y 53% para 0.25, 0.5, 1 y 2 mg/L Cd, respectivamente. Con respecto a los efectos, se observó inhibición de crecimiento, clorosis y alteración del borde de las hojas en todos los tratamientos con Cd. En las plantas expuestas a 2 mg/L Cd se observó necrosis parcial y daños en los tricomas. A pesar de los síntomas de toxicidad, *S. auriculata* pudo mantener altos porcentajes de remoción de Cd. Se propone el cultivo controlado de *S. auriculata* para la remoción de Cd en agua contaminada y su empleo como bioindicador de este metal.

Palabras Claves: Cadmio, Fitorremediación, Remoción, *Salvinia auriculata*.

Abstract

Cadmium is considered one of the most dangerous heavy metals, its high toxicity has generated various problems to the environment and the health of living beings. The aim of this work was to demonstrate the ability to remove Cd by *Salvinia auriculata* in contaminated water and record the morphological effects due to its exposure. For this, *S. auriculata* was exposed to 5 dilution treatments of 0, 0.25, 0.5, 1 and 2 mg / L Cd for 8 days. At the end of the bioassay, the biomass, the percentage of tolerance, the average length of the leaves was determined and photographs of those were taken. Water and plant tissue samples were analyzed by atomic absorption spectrophotometry of graphite furnace. The removal results found were 64%, 56%, 55% and 53% for 0.25, 0.5, 1 and 2 mg / L Cd, respectively. Regarding the effects, inhibition of growth, chlorosis and alteration of the edge of the leaves was observed in all treatments with Cd. In plants exposed to 2 mg / L Cd, partial necrosis and damage to the trichomes were observed. Despite toxicity symptoms, *S. auriculata* was able to maintain high percentages of Cd removal. The controlled culture of *S. auriculata* is proposed for the removal of Cd in contaminated water and its use as a bioindicator of this metal.

Keywords: Cadmium, Phytoremediation, Removal, *Salvinia auriculata*.

* Correspondencia del autor:
E-mail: melanieayalaa@gmail.com



Introducción

El incremento de las actividades industriales, minería y el excesivo empleo de fertilizantes en la agricultura ha afectado, en especial, a los ecosistemas acuáticos (Wolff, Pereira, Castro, Louzada, & Coelho, 2012). Diferentes sustancias perjudiciales son liberadas frecuentemente de forma sintética y los cuerpos de agua son directa o indirectamente el destino final de estas sustancias (Megateli, Semsari, & Couderchet, 2009).

Los cuerpos de agua pueden contener diversos contaminantes orgánicos e inorgánicos, entre los principales que pueden afectar su calidad están los metales pesados. Los metales pesados también llamados metales traza, han sido de especial preocupación por su característica alta toxicidad en bajas concentraciones. Además, su presencia predispone su acumulación en la fauna y flora, y por consecuencia su bioacumulación y biomagnificación en la cadena trófica (Pernía, Sousa, Reyes, & Castrillo, 2008).

Los metales pesados están presentes naturalmente en la corteza terrestre como componentes del agua, suelo y materia viva, estos se presentan normalmente en concentraciones que no causan efectos nocivos en la salud de los seres vivos (Londoño, Londoño & Muñoz, 2016).

Una gran cantidad de metales pesados como el zinc (Zn), hierro (Fe), cobalto (Co) se consideran fundamentales para las funciones biológicas de todo ser vivo, pese a esto, su exceso o escasez pueden influenciar de manera negativa. Sin embargo, metales como el cadmio (Cd), plomo (Pb), mercurio (Hg), entre otros, no cumplen ninguna función fisiológica e interactúan tóxicamente provocando efectos negativos tanto en la salud humana y animal como en la naturaleza (Londoño et al., 2016). Por otra parte, otro pequeño grupo de metales pesados no influencia de ninguna de las maneras antes mencionadas (Page, Bingham & Chang, 1981).

Según Goering, Waalkes & Klaassen (1995), el cadmio (Cd) es considerado único entre los metales por sus diversos efectos tóxicos, su amplia vida media de entre 20 y 30 años en los humanos, su predominante acumulación en tejidos como el hígado y riñón, y su mínima tasa de excreción del cuerpo.

Entre los efectos que causa en la salud la contaminación por cadmio se encuentra: nefrotoxicidad, carcinogenicidad, teratogenicidad, toxicidades endócrinas y reproductivas (Goering et al., 1995), daños al sistema respiratorio e insuficiencia renal (Nordberg, 2012).

Dado a la significancia de esta problemática es necesario la aplicación e investigación de diferentes tecnologías para la purificación de aguas residuales. En la actualidad se utilizan tecnologías tales como, la adsorción, coagulación, electrolisis, entre otras. Estos métodos presentan varias desventajas por su

implicación económica y la cantidad de lodo que pueden generar (Khataee, Movafeghi, Torbati, Salehi Lissar & Zarei, 2012).

En los últimos años, la biorremediación se ha convertido en una alternativa sostenible y eficaz, la cual utiliza organismos vivos para la recuperación de sitios contaminados (Khataee et al., 2012).

Dentro de la biorremediación, la fitorremediación presenta amplias ventajas frente a tecnologías convencionales de remediación de medios contaminados (Delgadillo-López, González-Ramírez, Prieto-García, Villagómez-Ibarra & Acevedo-Sandoval, 2011). Varios estudios han sugerido la implementación de plantas acuáticas que habitan en medios contaminados para el saneamiento de aguas residuales debido a que, generalmente poseen la capacidad de tolerar y acumular altas concentraciones de metales pesados sin afectar su desarrollo (Abhilash et al., 2009).

Algunos autores han reportado considerables porcentajes de remoción de Cd por helechos acuáticos del género *Salvinia*. Por ejemplo, *S. herzogii* ha logrado remover entre un 63% y 84% de Cd (Caviedes Rubio, Delgado & Olaya Amaya, 2016), *S. herzogii* un 84% (Maine, Duarte & Suñé, 2001; Martelo & Lara, 2012) (Tabla 1). Sin embargo, *Salvinia auriculata* no ha sido empleada con este fin, por este motivo, en el presente estudio se planteó evaluar su eficiencia en la remoción de Cd.

Materiales y Métodos

Área de estudio

La presente investigación fue realizada en el Instituto de Investigación de Recursos Naturales (IIRN) de la Facultad de Ciencias Naturales - Universidad de Guayaquil, situada en el norte de ciudad de Guayaquil, sus coordenadas UTM WGS son X: 620370, Y: 9762629.

El bioensayo se realizó en la ciudadela Saucos 5, localizada en el norte de la ciudad de Guayaquil, sus coordenadas UTM WGS son X: 623186, Y: 9765519.

Guayaquil, ciudad costera de Ecuador, se encuentra en el bosque seco deciduo del Pacífico Ecuatorial, dentro de la zona de vida Bosque muy seco tropical (Bms-T), este se caracteriza por presentar precipitaciones bajas, con aproximadamente 800 mm anuales, temperaturas promedio entre 25 y 26°C y altitudes aproximadas de 5 a 300 msnm (Cañadas, 1983).

Ecuador está localizado la zona ecuatorial y en las costas del Océano Pacífico, lo que predispone a que las corrientes frías de Humboldt y la corriente cálida del Niño marquen dos periodos climáticos: la estación lluviosa, que abarca los meses de diciembre hasta abril, y la estación seca que abarca los meses desde mayo hasta diciembre (Salto & Torres-Ruilova, 2017).

Durante el mes de julio, mes en que se realizó el bioensayo (del 4 al 11 de julio), se registraron

Tabla 1. Remoción y acumulación de contaminantes en especies del género *Salvinia*.

Especie	Contaminante	Porcentaje de remoción	Acumulación en Peso seco	Referencia
<i>S. auriculata</i>	<i>Escherichia coli</i>	100%		León et al., 2018 Molisani et al., 2006, Petrucio & Esteves, 2005
	Coliformes fecales	100%		
	Hg		246 ng/g	
	N	62%		
	P	68.2%		
<i>S. mínima</i>	Pb	97.44%	7,705 mg/Kg	Olguín, Hernández, & Ramos, 2002 Hoffmann et al., 2004
	As		0.5mg/g	
	Cd	82.59%	11,262 mg/Kg	
	Cr		3,111 mg/Kg	
<i>S. herzogii</i>	Cd	63-84%	96 mg/kg	Maine et al., 2001 Caviedes Rubio et al., 2016 Martelo & Lara, 2012 Paris, Hadad, Maine, & Suñe, 2005
	Cr	64-90%		
	Fe	88%	802 mg/Kg	
	Pb	90%		
	Zn	42%		
	Ni	57%		
	Cu	94%		
	Mn		8 mg/kg	
<i>S. rotundifolia</i>	Pb	95%		Martelo & Lara, 2012
<i>S. molesta</i>	AS	19%	628 mg/Kg	Caviedes Rubio et al., 2016
	Fe	70%		
	Cr	99%		
	Pb	28%	367 mg/Kg	
	Zn	22%		
	Ni	72%		
	Cu	21%	680 mg/Kg	
<i>S. natans</i>	As		18 mg/kg	Caviedes Rubio et al., 2016
	Cu	90%		
	Fe	33-88%		
	Cr	78%	290 mg/kg	
	Pb	55%	420 mg/kg	
	Zn	52%		
	NI	90%	6295 mg/kg	
	Hg		76 mg/kg	
	Cd	27%		
	Mn	35%		
<i>S. cucullata</i>	Cd		1,636.1 mg/Kg	Phetsombat et al., 2006, Caviedes Rubio et al., 2016
	Pb		14,305.6 mg/Kg	

temperaturas mínimas medias de 21°C y máximas medias de 29.5°C en la Estación Guayaquil Aeropuerto - DAC (INAMHI, 2019a, 2019b).

Recolección de las plantas

Los ejemplares de *S. auriculata* fueron donados por el Instituto de Recursos Naturales de la Facultad de Ciencias Naturales - Universidad de Guayaquil. Especie cultivada y utilizada en investigaciones y tesis previas.

Reproducción de las plantas

Los individuos de *S. auriculata*, se reprodujeron en condiciones naturales por aproximadamente un mes. Para esto, se colocaron en envases de polietileno de alta densidad con capacidad de 5 litros, se añadió 4 L de agua de grifo y se agregó Fertilizante (MultiFlor®) según las indicaciones del fabricante.

Bioensayo

Siguiendo la metodología propuesta por Pernía et al. (2016), luego del periodo de aclimatación y reproducción, se separaron 12 gramos de *S. auriculata* de tamaños relativamente uniformes y se colocaron en cada recipiente. Dichas plantas se expusieron por un periodo de 8 días a 5 tratamientos que contenían una solución nutritiva de 2 L de agua destilada con Cd en sus respectivas concentraciones (Tabla 2).

El bioensayo se realizó por triplicado y se utilizó un control 0 mg/L Cd. Las concentraciones mencionadas fueron elegidas con el objetivo de comparar los resultados con otros resultados de estudios de diferentes macrófitas expuestas a cadmio. Durante el periodo del bioensayo se registró una temperatura promedio de 25.2°C (INAMHI, 2019b, 2019a), se procedió a exponer las plantas a un fotoperiodo de 12 horas, siendo la radiación solar máxima de Guayaquil 1130 W/m² en el mes de julio (Agencia Espacial Civil Ecuatoriana, 2019).

También se llevó un registro fotográfico del 4^{to} y 8^{vo} día de todos los recipientes con plantas expuestas a los diferentes tratamientos, como medio de verificación de la respuesta morfológica de *S. auriculata* ante la exposición a cadmio.

Procesamiento de las muestras

Luego de los 8 días de exposición las muestras se lavaron

con abundante agua destilada, se escurrieron y pesaron en una balanza analítica Sartorius, se determinó el crecimiento promedio de las hojas utilizando un vernier calibrado y se tomó los valores de pH de cada uno de los tratamientos con un multiparámetro Apera Instruments modelo PC60.

Posteriormente, se obtuvo la biomasa de los helechos, determinando el peso seco en una estufa a 80°C durante 4 días. Al terminar este periodo se comprobó que el peso seco fuera constante y se determinó el peso con una balanza analítica Sartorius calibrada. A partir de estos valores se calculó la biomasa y la tolerancia al cadmio.

Índice de Tolerancia

Dentro de cualquier experimento se puede llevar un control de las medidas y pesos de las plantas, con estos valores se puede calcular el índice de tolerancia a un contaminante, basándose en las medidas del control en comparación a las plantas expuestas a un contaminante específico. Para determinar la tolerancia al Cd se comparó con plantas tratadas y no tratadas utilizando la fórmula (Wilkins, 1978):

$$\text{Índice de tolerancia (\%)} = \frac{(\text{Crecimiento en la solución} + \text{metal}) \times 100}{(\text{Crecimiento en la solución} - \text{metal})}$$

Crecimiento de las plantas

Al finalizar el bioensayo y previo al procesamiento de las muestras, se tomó ejemplares de todas las plantas expuestas a todos los tratamientos, y se midió su crecimiento en largo y ancho de las hojas flotantes con un vernier calibrado (Stainless).

Análisis morfológico

Para el análisis morfológico se observó mediante microscopio estereoscópico hojas flotantes de *S. auriculata* expuestas a cada tratamiento y se capturaron fotografías para posteriormente analizar los cambios estructurales. De igual manera se consideró el registro fotográfico de los envases con las plantas a diferentes concentraciones de Cd en el cuarto y octavo día (Fig.1).

Factor de Bioconcentración

La bioconcentración de una sustancia química que posee un organismo acuático generalmente se expresa como factor de bioconcentración, este factor es la relación entre la concentración del componente situado en el organismo y la concentración del componente situado en el medio (Phetsombat, Kruatrachue, Pokethitiyook & Upatham, 2006). Se calcula por medio la ecuación a continuación:

$$FBC = \frac{\text{Concentración de Cd en la planta}}{\text{Concentración de Cd en el medio}}$$

Análisis de laboratorio

Las plantas fueron analizadas en el Laboratorio de Análisis Químico y Microbiológico de Alimentos de la Subsecretaría de Calidad e Inocuidad (SCI) del Ministerio de Acuicultura y Pesca.

Previo al análisis, las muestras de tejido vegetal y de agua fueron homogeneizadas. Se colocaron

Tabla 2. Tratamientos a los que estuvo expuesta *Salvinia auriculata* durante el bioensayo

Tratamiento	mg/L Cd
T0	0
T1	0,25
T2	0,5
T3	1
T4	2

0,30±0,05 g de cada muestra de tejido vegetal y 10 mL de cada muestra de agua en vasos de teflón (CEM Corporation), posteriormente se añadió 6 mL de ácido nítrico concentrado y se digestaron en un microondas (MARSExpress, CEM).

Una vez obtenidas las soluciones, fueron diluidas con agua ultra pura a un volumen total de 25 mL, trasvasando las aguas de lavado a esta solución.

Método

El método empleado para el análisis de las muestras de agua y tejido vegetal en el Laboratorio de Metales Pesados de la SCI se basa en un proceso térmico donde las diferentes muestras son digeridas por medio de 4 etapas: secado, carbonizado atomización y limpieza del horno de grafito.

La determinación del contenido de cadmio en cada una de las muestras se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica de horno de grafito, con la implementación del espectrofotómetro VARIAN modelo SpectrAA 220Z y como modificadores de matriz se aplicaron soluciones de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ y $\text{MgNO}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Esta técnica se fundamenta en que un elemento ó analito excitado provoca una radiación la cual atraviesa el vapor que contiene los átomos de ese elemento en estado basal. La intensidad de radiación transmitida va disminuyendo proporcionalmente con respecto a la cantidad del elemento en estado basal en el vapor. Al aumentar la temperatura del horno los átomos de cadmio se sitúan en el haz de radiación, lo que causa que se volatilice la muestra inyectada. Mediante un monocromador se capta la radiación característica de la lámpara de cátodo hueco, y se mide la radiación atenuada transmitida por medio de un dispositivo fotosensible (EPA, 2007). Se empleo una longitud de onda de 228.8 nm para la revelar de la concentración de átomos de Cd y estos valores se comprobaron por medio de la adición de muestras como controles de calidad soluciones blanco de reactivo, muestras duplicadas, muestras fortificadas y muestra certificada de referencia (IAEA 407, tejido de pescado). El método empleado tiene un límite de

cuantificación (LC) de 0,014 mg/kg. Los valores se expresan en mg/kg en peso húmedo.

Análisis estadístico

Obtenidos los resultados del laboratorio, se trasladaron los datos a Excel y se procedió a procesar la estadística básica. Por medio de la implementación del software estadístico Minitab versión 17, para determinar la normalidad de los datos se aplicaron las pruebas Kolmogorov - Sminorv (Capacidad de acumulación, factor de bioconcentración y remoción de Cd) y Anderson Darling (Biomasa, crecimiento, índice tolerancia, y pH), y el test de Levene para determinar la igualdad de varianzas. Se utilizó la prueba paramétrica ANOVA de un solo factor para comparar las medias y determinar si hubo diferencias significativas, para ello se tomó $p < 0.05$ como valor significativo confirmando por medio del test de Tukey o prueba de Dunnet (remoción de Cd). Los valores se expresaron como promedio ± desviación estándar. Las gráficas se realizaron con el programa OriginPro8.

Resultados

Efecto del cadmio sobre la biomasa de la especie *S. auriculata*

La biomasa presentó un descenso significativo a media que la concentración de Cd en el agua aumentaba ($p < 0,05$). La biomasa en T0 mostró un peso de 1.1 ± 0.17 g en PS, T1 mostró una disminución estadísticamente significativa con respecto a T0, el valor de T1 fue de 0.73 ± 0.11 g en PS. De igual manera T4, el menor resultado de todos los tratamientos, tuvo una reducción significativa con respecto a T0 y T1 presentando un valor de 0.3 ± 0.1 g en PS. Según ANOVA de una sola vía y prueba de Tukey ($F=20.63$; $p=0.000$).

La variación de la biomasa se comparó con el control (T0), obteniendo una reducción de la biomasa en los siguientes porcentajes: 33.3, 54.1, 51.1, y 72.7% en los tratamientos T1, T2, T3 y T4, respectivamente.

Es importante mencionar que tan solo en el tratamiento T0 hubo reproducción y crecimiento, en

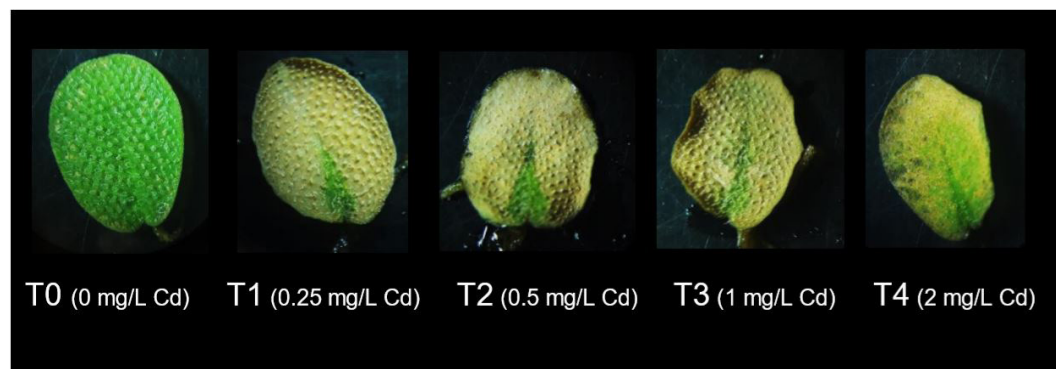


Figura 1. Registro Fotográfico al octavo día de las hojas de *Salvinia auriculata* expuesta a diferentes concentraciones de cadmio. La observación se realizó mediante un microscopio estereoscópico.

los demás tratamientos no sé observo, inclusive los brotes no presentaron desarrollo.

Efecto del cadmio sobre la tolerancia de *S. auriculata*

Los resultados de la tolerancia al Cd por *S. auriculata* presentaron una tendencia similar al de la biomasa, los valores mostraron una proporcionalidad inversa entre la concentración de cadmio en el tratamiento y el índice de tolerancia. En la figura 2 se puede observar los valores, como valor referencial se toma a T0 con una tolerancia del 100%, mientras que T1 y T4 muestran índices de tolerancia del 66.36% y 27.27%, respectivamente. Dichos valores mostraron una disminución estadísticamente significativa, según ANOVA de una sola vía y prueba de Tukey ($F=20.63$; $p=0.000$)(Fig.2).

Efecto del cadmio sobre el crecimiento de *S. auriculata*

Para estudiar el crecimiento de *S. auriculata* se consideró tanto el largo como el ancho promedio de sus hojas expuestas a los diferentes tratamientos. La longitud de las hojas presentó una proporcionalidad inversa entre su crecimiento y la concentración de Cd a la que estaban expuestas (Fig. 3).

El largo presentó una tendencia descendiente estadísticamente significativa. Entre estas se puede mencionar a T0 (11.35 ± 1.14 mm) y T1 (10.14 ± 1.1 mm), los cuales presentaron una disminución significativa con respecto a T4 (8.68 ± 0.6 mm) ($F=11.37$; $p=0.000$). De igual manera, el ancho de la hoja disminuyó en comparación al control en todos los tratamientos según ANOVA de una sola vía y prueba de Tukey ($F=16.65$; $p=0.000$). El control T0 (9.25 ± 1.32 mm) mostró una diferencia significativa con respecto a los demás tratamientos y T4 (6.81 ± 0.61) desarrolló la menor longitud.

La longitud de las hojas se comparó con la longitud del control, obteniendo porcentajes de reducción del crecimiento en ancho y largo. Como resultado, las

hojas de los tratamientos T1, T2, T3 y T4 presentaron una disminución del 10.6, 15.56, 18.76 y 23.49% de su longitud y una disminución del 17.43, 17.29, 20.57 y 26.41% en el ancho, respectivamente.

Efecto del cadmio sobre la morfología de la planta

Para analizar el efecto morfológico como respuesta a las concentraciones de Cd sobre las plantas, se consideró tanto el registro fotográfico del 4to y 8vo día como los cambios morfológicos observados mediante microscopio al culminar el bioensayo.

Al 4to día todas las plantas, a excepción de T0, presentaron clorosis en la mayoría de sus hojas, pero en mayor proporción en la solución de 2 mg/L Cd. Al 8vo día se observó que la clorosis se había propagado en más individuos de *S. auriculata* expuestos a Cd.

Al finalizar el bioensayo, con la ayuda del microscopio, se determinó con mayor detalle las respuestas de *S. auriculata* ante la exposición a cadmio. Se observó clorosis que iniciaba desde la parte externa de la hoja, y variación en los bordes de todas las hojas de los tratamientos T1, T2, T3 y T4. De igual manera, en estos tratamientos se observaron daños superficiales en los tricomas, pero en mayor proporción en T4, debido a que habían colapsado. Además, en este último tratamiento se observó necrosis parcial.

Cambio de pH en la solución

El agua utilizada al iniciar el bioensayo presentó pH 7. Al finalizar el bioensayo se registraron todos los valores de pH de los tratamientos, como resultado se obtuvo condiciones ácidas en todas las soluciones. Los pH más bajos se manifestaron en T0 (3.99 ± 0.09), T1 (4.55 ± 0.06) y T4 (4.56 ± 0.36), entre estos valores no encontraron diferencias estadísticamente significativas. Mientras que los valores más altos se presenciaron en T2 (5.08 ± 0.14) y T3 (5.18 ± 0.59) los cuales, si presentaron un incremento estadísticamente significativo en comparación con T0, según ANOVA de una sola vía y prueba de Tukey ($F=6.63$ $p=0.007$).

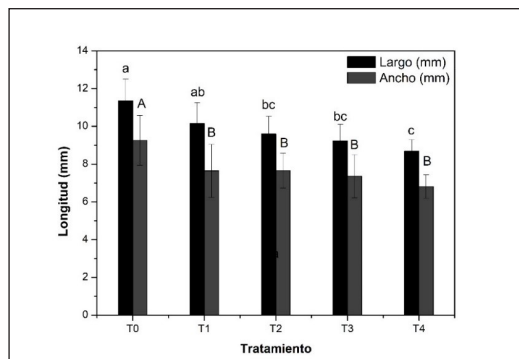


Figura 2. Efectos del Cadmio sobre la tolerancia de *Salvinia auriculata* expuesta a diferentes concentraciones de Cd (T0= 0 mg/L T2=0,5 mg/L, T4=2mg/L). Los resultados se presentan como promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican que existe diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

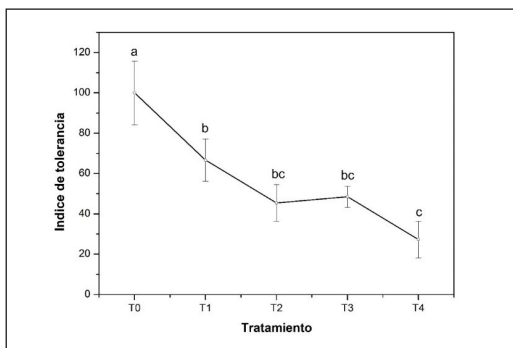


Figura 3. Efectos del Cadmio sobre el crecimiento de las hojas de *Salvinia auriculata* expuesta a diferentes concentraciones de Cd (T0= 0 mg/L, T1= 0,25 mg/L, T3= 1 mg/L, T4=2 mg/L). Los resultados se presentan como promedio $\pm$ desviación estándar. Letras diferentes indican que existe diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Capacidad de acumulación de Cd

Salvinia auriculata tiende a aumentar de concentraciones de Cd en su biomasa a medida que la concentración del metal es mayor en el tratamiento (Fig.4).

Se observó que las plantas sometidas a los tratamientos T1, T2, T3 y T4 alcanzaron valores de acumulación de 203.96 ± 25.98 , 433.63 ± 56.09 , 924.60 ± 98.95 y 1128.27 ± 37.89 mg/Kg Cd en peso seco, respectivamente. La captación de Cd en las plantas presentó un incremento estadísticamente significativo cuando la concentración de Cd en el tratamiento aumentaba, según ANOVA de una sola vía y prueba de Tukey ($F=226.65$; $p=0.000$).

Factor de bioconcentración

Con respecto al FBC, los tratamientos T1, T2 y T3 presentaron valores de 815.84 ± 103.94 , 867.27 ± 112.18 y 924.60 ± 98.95 , respectivamente, mostrando una tendencia a aumentar su factor de bioconcentración a medida que la concentración de Cd en el tratamiento aumentaba, no obstante, no se demostró diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Al contrario, en T4 se apreció un declive estadísticamente significativo en el FBC con un valor de 564.13 ± 18.94 , según ANOVA de una vía y test de Tukey ($F=64.70$; $p=0.000$).

Remoción de Cd

En lo que concierne a la remoción de cadmio, se comparó la concentración inicial del cadmio de las soluciones con la concentración a los 8 días. En la Figura 5 se visualiza el incremento de remoción del metal mientras que la concentración en la solución aumentaba. Todos los tratamientos con cadmio mostraron diferencias significativas según ANOVA y prueba de Dunnet ($p < 0.05$).

En todas las soluciones con Cd (T1, T2, T3 y T4) la disminución fue significativa, las concentraciones pasaron de 0.25 ± 0.00 a 0.089 ± 0.01 mg/L de Cd

($F=240.75$; $p=0.000$), de 0.5 ± 0.00 a 0.22 ± 0.02 mg/L de Cd ($F=784.00$; $p=0.000$), de 1.00 ± 0.00 a 0.44 ± 0.18 mg/L de Cd ($F=26.02$; $p=0.007$) y por último de 2.00 ± 0.00 a 0.92 ± 0.04 mg/L de Cd ($F=1630.14$; $p=0.000$).

Con la finalidad de comprobar a que concentraciones de Cd hay mayores porcentajes de remoción por *S. auriculata*, obteniendo los siguientes datos.

En la Figura 5 se demuestra los valores presentados en cada uno de los tratamientos. En T1 se presentó una remoción del 64.13 ± 7.16 %, en T2 56.0 ± 3.46 %, en T3 55.7 ± 18.9 % y en T4 53.83 ± 2.31 %. La tendencia del porcentaje de remoción es inversamente proporcional a la concentración de Cd en el tratamiento, sin embargo, no existe diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos según ANOVA y test de Tukey ($F=0.59$; $p=0.638$).

Comparación de remoción de Cd por otras especies vegetales acuáticas

Los resultados de remoción de Cd por *S. auriculata* fueron comparados con los resultados de distintas plantas acuáticas expuestas a las mismas soluciones que la presente investigación (Tabla 3).

Los porcentajes de remoción de *S. auriculata*, son menores en ciertas plantas como es el caso de *Azolla* y *Limncharis*, en cambio, en *Eichhornia*, *Lemna gibba* y *Pistia stratiotes* los porcentajes de remoción son mayores que en nuestra planta en estudio.

Discusión

Los resultados de remoción de Cd por *Salvinia auriculata* registraron valores de hasta 64.1% en el tratamiento T1 con 0.25 mg/L de Cd. No obstante, todas las concentraciones implementadas en este trabajo tuvieron una reducción de Cd de más del 53.8%, valor que refleja la eliminación de 1.08 mg/L de cadmio en la solución del tratamiento T4, debido a

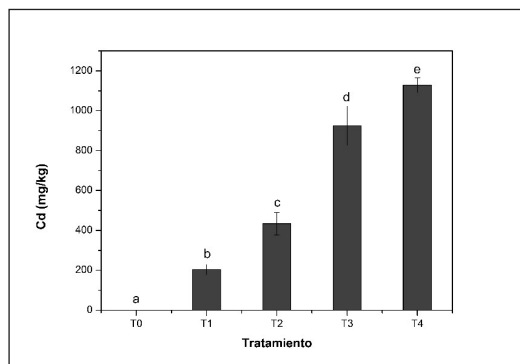


Figura 4. Concentración de Cd en *Salvinia auriculata* expuesta a diferentes concentraciones de Cd (T0= 0 mg/L, T1= 0,25 mg/L, T2= 0,5 mg/L, T3= 1 mg/L, T4= mg/L). Los resultados se presenta como promedio $\pm$ de desviación estándar. Letras diferentes indican que existe diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

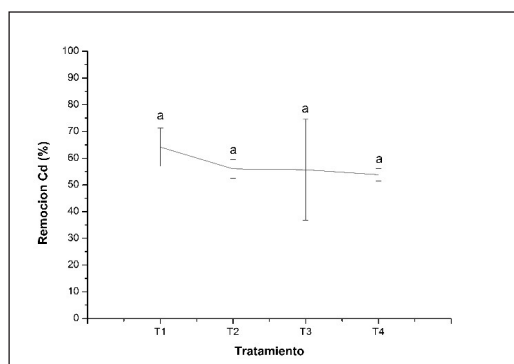


Figura 5. Porcentaje de remoción de Cd por *Salvinia auriculata* expuesta a diferentes concentraciones de Cd (T0=0 mg/L, T1= 0,25 mg/L, T2= 0,5 mg/L, T3= 1 mg/L, T4= 2 mg/L). Los resultados se presentan como promedio $\pm$ desviación estándar. Letras iguales indican que no existe diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

que las concentraciones pasaron de 2 a 0.92 mg/L Cd. Los porcentajes de remoción mencionados superan a los registrados en *Azolla* sp., un helecho acuático que fue expuesto a las mismas concentraciones y periodos similares que *S. auriculata* en el presente experimentó; sin embargo, dicha especie logró remover por debajo del 50% de Cd en las soluciones (Pernía *et al.*, 2016). Por otra parte, *Salvinia herzogii*, especie de la misma familia y género que *S. auriculata*, presentó una remoción relativamente similar alcanzando valores de 58% en soluciones con 6 mg/L Cd (Suñe, Sánchez, Caffaratti & Maine, 2007). *Salvinia auriculata* presenta resultados de remoción de Cd eficientes para la purificación de aguas contaminadas con este metal. Sin embargo, se ha reportado porcentajes mayores de remoción de cadmio en diferentes especies del género *Salvinia* (Maine *et al.*, 2001; Olguín *et al.*, 2002) (Tabla 1). Otras especies acuáticas como *Lemna gibba* con un 84.80% de remoción (Verma & Suthar, 2015), o *Pistia stratiotes* con 86.6% de remoción (Maine *et al.*, 2001); (Tabla 3). Cabe recalcar que las especies mencionadas estuvieron expuestas a un periodo de tiempo más largo, lo cual pudo influir en la mayor eficacia de remoción.

A pesar de los considerables valores de remoción, no se logró llegar a concentraciones por debajo del límite máximo permisible según la legislación ecuatoriana, donde el TULSMA (2015), establece que en aguas dulces frías o cálidas el límite es 0.001 mg/L Cd y en aguas marinas y de estuarios es 0.005 mg/L Cd. Sin embargo, vale recalcar que las concentraciones iniciales de cadmio con las que se implementó el bioensayo, no son valores que se han registrado en estudios de ríos del Ecuador (Ramírez-Prado *et al.*, 2016; Pernía *et al.*, 2018; Mero *et al.*, 2019).

Con respecto al efecto del Cd sobre la morfología de *S. auriculata*, único resultado cualitativo del presente trabajo, al igual que Wolff *et al.* (2012), los registros fotográficos expusieron respuestas morfológicas evidentes a pocos días de exposición al Cd (Figura 1). En los tratamientos T1, T2, T3 y T4 presentaron clorosis comenzando desde el borde hacia el centro de la hoja. La clorosis puede estar asociada a la deficiencia de hierro, uno de los nutrientes

principales que anula el Cd, o por inhibición de la síntesis de clorofila, este efecto también ha sido referenciado como biomarcador de fitotoxicidad al Cd (Mongkhonsin, Nakbanpote, Meesungnoen & Prasad, 2019; Pernía *et al.*, 2008; Wilkins, 1978).

Por otro lado, en el tratamiento de 2 mg/L Cd, se observó necrosis parcial en el haz de la hoja, lo que podría representar un daño celular, también se observó deterioro de tricomas, lo cual pudo ser ocasionado por un colapso frente a las altas concentraciones de Cd. Por último, se observó ondulaciones marginales a partir de T1, lo que se apreció más evidentemente a mayor concentración. Este efecto pudo ser provocado por cierta contracción del tejido de la lámina como efecto del daño a nivel celular. Además de estos efectos, no se observó crecimiento de los brotes, por lo que pareciera que hubo inhibición del crecimiento y de la reproducción.

A pesar de los síntomas de toxicidad en la morfología de la hoja del helecho, *S. auriculata* logró remover hasta un 1 mg/L de cadmio en agua contaminada.

Por otra parte, los resultados del efecto en la biomasa de *S. auriculata*, a causa de la exposición al Cd, presentaron disminuciones significativas de hasta el 72.7% en la solución con 2 mg/L Cd. En el tratamiento T1 (0.25 mg/L Cd) se presentó una reducción de 33.3%, este valor es menor al registrado por Wolff *et al.* (2012), donde se expuso *S. auriculata* a 1 µmol/L Cd (equivalente a 0.18 mg/L) y se obtuvo una reducción del 49.5% de la biomasa de las hojas flotantes y 72.4% en la hoja sumergida. De igual manera, *L. gibba* presentó mayores porcentajes de reducción de biomasa en menores concentraciones de Cd. La especie expuesta a 0.1 mg/L tuvo una disminución del 83% en su biomasa (Megateli *et al.*, 2009). Los mayores porcentajes de reducción en las especies mencionadas podrían estar relacionados con el mayor tiempo de exposición, debido a que estas plantas tuvieron un periodo de 10 días de exposición en comparación con los 8 días de *S. auriculata*.

La reducción de la biomasa en especies vegetales sometidas a la exposición a cadmio ha sido descrito como efecto indirecto ante la interferencia con la

Tabla 3. Resultados de remoción de Cd por plantas acuáticas expuestas a las mismas concentraciones que *S. auriculata*

	Cd (mg/L)				Referencia
	0,25	0,5	1	2	
<i>S. auriculata</i>	64.1%	56%	55.7%	53.8%	La presente investigación
<i>Azolla</i>	46.3%	29.2%	30%	0%	(Pernía <i>et al.</i> , 2016)
<i>Eichhornia</i>	100%	-	-	-	(Pernía <i>et al.</i> , 2016)
<i>Limncharis</i>	30%	-	-	-	(Pernía <i>et al.</i> , 2016)
<i>Lemna gibba</i>	-	-	-	84.80%	(Verma & Suthar, 2015)
<i>Pistia stratiotes</i>	-	-	63%	65%	(Maine <i>et al.</i> , 2001)

toma de nutrientes (Nedjimi, 2018; Pernía et al., 2008) o también se puede interpretar como estrategia de defensa ante la absorción al cadmio.

Otro síntoma de toxicidad observado como resultado de la exposición a Cd fue la disminución del crecimiento de las hojas de *S. auriculata*. El resultado más elevado se observó en la solución con 2 mg/L de Cd. Este efecto puede ser causa de la inhibición que genera el Cd en el desarrollo de las plantas a consecuencia de su efecto sobre la hormona del crecimiento (Phetsombat et al., 2006), como también en la inhibición del alargamiento celular, metabolismo y fotosíntesis (Mongkhonsin et al., 2019).

Tanto los resultados de la biomasa como el crecimiento, reflejan que *S. auriculata* posee una baja tolerancia ante la toxicidad del Cd acumulado en sus tejidos. Para mayor sustento de esta hipótesis se calculó el índice de tolerancia. Los resultados, tomando al control como 100%, presentaron la misma tendencia que la biomasa, los valores fueron decrecientes a medida que la concentración de Cd era más alta, el valor menor se generó en el tratamiento T4 con un índice del 27.27 % de tolerancia. Estos valores son muchos menores a los reportados por otras especies, como es el caso de *Limnocharis* con un índice de tolerancia de 116.46 %, y de *Eichhornia* con 123.57% (Pernía et al., 2016). Las plantas mencionadas poseen un tamaño significativamente mayor a *S. auriculata*, es posible que esta característica haya influenciado en los índices de tolerancia.

Con respecto al pH, se conoce que en condiciones ácidas los metales pesados se encuentran con mayor movilidad y biodisponibilidad (Legña, 2018; Martorell, 2010), pero por otra parte, Verma & Suthar (2015) mencionan que, aplicando de igual manera una especie vegetal acuática, hay una mayor tasa de remoción de Cd en condiciones ácidas específicamente entre pH 5 y 7. En este experimento, se presenciaron los dos casos, el pH disminuyó entre 3.99 ± 0.09 y 5.18 ± 0.59 , en condiciones ambientales, inclusive en el control (T0), debido a esto el metal se encontraba en alta biodisponibilidad y como consecuencia la planta presentó varios daños fitotóxicos, sin embargo, logró remover hasta el 64% de Cd en el tratamiento con menor concentración (0.25 mg/L).

En lo que respecta a acumulación, *S. auriculata* superó los valores registrados en *Limnocharis flava* (817.3 ± 112.2 mg/kg Cd en raíces), a pesar de que esta especie es de mayor tamaño (Pernía et al., 2016). Sin embargo, no logró superar los valores registrados por otros autores en especies de *Salvinia*, como es el caso de Phetsombat et al. (2006), quienes reportaron una acumulación de 1636 mg/Kg en las raíces de *Salvinia cucullata* expuesta a 4 mg/L Cd.

Esta mayor acumulación puede estar en función de la exposición a mayor concentración del metal, como también, que los valores son los encontrados en la

raíz de la especie, y como se conoce ampliamente, la raíz generalmente acumula mayores concentraciones de metales pesados en comparación a los demás órganos de la planta, lo cual, no puede validar que *S. cucullata* es mayor acumuladora que *S. auriculata*. En el caso de *S. minima*, se observó una potencial acumulación de 11.262 mg/kg Cd en una solución con 4 mg/L Cd por 120 horas de exposición (Olguín et al., 2002). Este experimento se mantuvo controlado a pH 7, lo que pudo haber influido en la alta tasa de acumulación, debido a que según Verma & Suthar (2015), este valor es el óptimo para la acumulación de Cd en plantas.

En este estudio el FBC fue mayor que el registrado por Phetsombat et al. (2006), donde *S. cucullata* presentó un FBC de 492.1, mientras que en el presente trabajo *S. auriculata* logró un FBC de 564.13, las especies mencionadas estuvieron expuestas a la misma concentración y periodo. Por otro lado, el FBC reportado en *S. minima* es superior, los valores alcanzan 2.718 para concentraciones de 4 mg/L (Olguín et al., 2002).

Cabe indicar que el FBC mencionado en *S. auriculata* es el menor de todos los tratamientos, los valores más altos se encontraron en concentraciones de 0.25, 0.5 y 1 mg/L Cd, a 2 mg/L Cd el FBC se redujo significativamente. El mismo escenario se presentó en *Azolla caroliniana*, *Eichhornia crassipes*, y *Limnocharis flava* (Pernía et al., 2016). Esto podría advertir que la acumulación de Cd en las especies citadas y en *S. auriculata*, comienza a decaer significativamente a partir de 2 mg/L como consecuencia de la alta toxicidad a esta concentración.

Los resultados del presente trabajo de investigación sugieren un doble uso para esta especie. Los varios y evidentes efectos del Cd en *S. auriculata* hacen a la especie una candidata potencial para el monitoreo de este metal en agua. Por otro lado, los resultados de remoción, acumulación y FBC de Cd exponen a *S. auriculata* como especie fitorremediadora de este metal.

Conclusiones

La presente investigación además de evidenciar el potencial de remoción de cadmio en *Salvinia auriculata*, también logró mostrar la respuesta ante la exposición al Cd en diferentes enfoques como biomasa, crecimiento, morfología, tolerancia y el nivel de acumulación de Cd en su tejido.

S. auriculata presentó afectaciones en su biomasa, crecimiento, tolerancia y morfología en todos los tratamientos, la gravedad de estos efectos estuvo en función de la concentración de Cd. Esto podría reflejar que inclusive en las concentraciones más bajas (0.25 mg/L Cd) la especie no desarrolló mecanismos de defensa. A pesar de dichos efectos, logró altos valores de acumulación y remoción de Cd.

El presente estudio demuestra que, a mayor concentración inicial de cadmio, mayores serán las tasas de acumulación en *S. auriculata*.

Tomando de referencia el concepto de fitorremediación, *S. auriculata* se identifica como especie hiperacumuladora de cadmio. Ya que, su acumulación es mayor a 100 mg/ Kg PS y posee un FBC por encima de 1.

Recomendaciones

Mediante el análisis de los datos obtenidos y la información recopilada en el presente estudio se procede sugerir lo siguiente:

Salvinia auriculata se puede recomendar como especie potencial para el empleo en fitorremediación de agua contaminada con Cd. No obstante, es probable que el potencial de remoción de cadmio sea más eficiente en concentraciones no mayores a 2 mg/L.

Su cultivo en bajas concentraciones de Cd requiere control, debido a que podría presentar sobrepoblación por sus antecedentes como especie invasora. En altas concentraciones se debe establecer un periodo corto de cosecha debido a que los efectos morfológicos en la especie se presentan a pocos días y pueden causar eutrofización en los cuerpos de agua.

Su disposición final demanda una adecuada cosecha y su biomasa puede ser utilizada como fuente de energía renovable o en su defecto debe ser incinerada e inmovilizada.

En vista de los resultados favorables, se sugiere realizar más investigaciones con *S. auriculata* para su aplicación en fitorremediación de metales pesados.

Referencias

Agencia Espacial Civil Ecuatoriana. (2019). Estación climatológica Guayaquil: EXA-ISS-1x. Retrieved from <http://gye.exa.ec/>

Cañadas, L. (1983). *Mapa bioclimático y ecológico del Ecuador*.

Caviedes, D., Delgado, D., & Olaya, A. (2016). Remoción de metales pesados comúnmente generados por la actividad industrial, empleando macrófitas neotropicales. *Producción + Limpia*, 11(2), 126-149. <https://doi.org/10.22507/pml.v11n2a11>

EPA. (2007). *Method 7010. Graphite furnace atomic absorption spectrophotometry*. 1-24. Retrieved from <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/7010.pdf>

Hoffmann, T., Kutter, C., & Santamaría, J. (2004). Capacity of *Salvinia minima* Baker to Tolerate and Accumulate As and P. *Engineering in Life Sciences*, 4(1), 61-65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elsc.200400008>

INAMHI. (2019a). *Boletín Agroclimatológico Decadal 01-10 Julio*. Retrieved from <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/>

INAMHI. (2019b). *Boletín Condiciones Meteorológicas Guayaquil- Durán*. Retrieved from <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/>

Legña, J. (2018). *Remoción de cadmio de los suelos aledaños de la laguna de Limoncocha por adsorción superficial del bagazo de la caña de azúcar (Saccharum officinarum)*.

Universidad Internacional SEK, Quito, Ecuador.

León, R., Franco, S., Cornejo, X., Pernía, B. M., Siguencia, R., & Noboa, A. (2018). Potencial de plantas acuáticas para la remoción de coliformes totales y *Escherichia coli* en aguas negras. *Enfoque UTE*, 9(4), 131-144. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v9n4.286>

Maine, M. A., Duarte, M. V., & Suñé, N. L. (2001). Cadmium uptake by floating macrophytes. *Water Research*, 35(11), 2629-2634. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00557-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00557-1)

Martelo, J., & Lara, J. (2012). Macrófitas flotantes en el tratamiento de aguas residuales; una revisión del estado del arte. *Revista Ingeniería y Ciencia*, 8(15), 221-243. Retrieved from <http://arxiv.org/abs/1809.10251>

Martorell, J. (2010). *Biodisponibilidad de metales pesados en dos ecosistemas acuáticos de la costa suratlántica andaluza afectados por contaminación difusa* (Universidad de Cádiz. Cádiz, España.). Retrieved from https://rodin.uca.es/xmlui/bitstream/handle/10498/15776/Tes_2010_06pdf;jsessionid=E37ED02C6A29DCDD1E1122E67E32D922?sequence=1

Megateli, S., Semsari, S., & Couderchet, M. (2009). Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(6), 1774-1780. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.05.004>

Mero, M., Pernía, B., Ramírez-Prado, N., Bravo, K., Ramírez, L., Larreta, E., & Egas, F. (2019). Concentración de cadmio en agua, sedimentos, *Eichhornia crassipes* y *Pomacea canaliculata* a en el río Guayas (Ecuador) y sus afluentes. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(3), 632-640. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.03.09>

Molisani, M. M., Rocha, R., Machado, W., Barreto, R. C., & Lacerda, L. D. (2006). Mercury contents in aquatic macrophytes from two reservoirs in the Paraíba do Sul: Guandú river system, SE Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 66(1a), 101-107. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842006000100013>

Mongkhonsin, B., Nakbanpote, W., Meesungnoen, O., & Prasad, M. N. V. (2019). Adaptive and Tolerance Mechanisms in Herbaceous Plants Exposed to Cadmium. In *Cadmium Toxicity and Tolerance in Plants* (pp. 73-109). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814864-8.00004-8>

Nedjimi, B. (2018). Plant nutrients and abiotic stress tolerance. In M. Hasanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, K. Nahar, & B. Hawrylak-Nowak (Eds.), *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance* (Springer, pp. 205-220). <https://doi.org/10.1007/978-981-10-9044-8>

Olguin, E. J., Hernández, E., & Ramos, I. (2002). The effect of both different light conditions and the pH value on the capacity of *Salvinia minima* Baker for removing cadmium, lead and chromium. *Acta Biotechnologica*, 22(1-2), 121-131. [https://doi.org/10.1002/1521-3846\(200205\)22:1/2<121::AID-ABIO121>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1521-3846(200205)22:1/2<121::AID-ABIO121>3.0.CO;2-F)

Paris, C., Hadad, H., Maine, M., & Suñé, N. (2005). Eficiencia de dos macrófitas flotantes libres en la absorción de metales pesados. *Limnetica*, 24(3), 237-243.

Pernía, B., Sousa, A., Reyes, R., & Castrillo, M. (2008). Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. *Interciencia*, 33(2), 112-119. [https://doi.org/0378-1844/08/02/112-06\\$3.00/0](https://doi.org/0378-1844/08/02/112-06$3.00/0)

Pernía, Beatriz, Mero, M., Cornejo, X., Ramírez-Prado, N., Ramírez, L., Bravo, K., Zambrano, J. (2018). Determinación de cadmio y plomo en agua, sedimento y organismos bioindicadores en el Estero Salado, Ecuador. *Enfoque UTE*, 9(2), 89-105. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v9n2.246>

Pernía, Beatriz, Mero, M., Muñoz, J., Morán, N., Zambrano, J., Cornejo, X., ... Torres, G. (2016). Plantas acuáticas con potencial para fitoextracción de Cadmio en arrozales del Cantón Daule, provincia del Guayas, Ecuador. *Rev. Cient. Cien. Nat. Ambien.*, 10(2), 37-51.

- Petrucio, M. M., & Esteves, F. A. (2005). Uptake rates of nitrogen and phosphorus in the water by *Eichhornia crassipes* and *Salvinia auriculata*. *Revista Brasileira de Biologia*, 60(2), 229-236. <https://doi.org/10.1590/s0034-71082000000200006>
- Phetsombat, S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., & Upatham, S. (2006). Toxicity and bioaccumulation of cadmium and lead in *Salvinia cucullata*. *Journal of Environmental Biology*, 27(4), 645-652. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17405325>
- Ramírez-Prado, N., Pernía, B., Mero, M., Larreta, E., Noboa-Cárdenas, A., Ramírez-Moreira, L., ... Castro, R. (2016). *Pomacea canaliculata* (Lamarck , 1828) as bioindicator of the presence of cadmium in the rivers Guayas , Daule and Babahoyo. *Rev. Cient. Cien. Nat. Ambien.*, 10(June), 19-28. Retrieved from https://issuu.com/fcienciasnaturalesug/docs/e-revista_vol10-1
- Salto, R. A. T., & Torres-ruilova, B. O. (2017). Evaluación climática para determinar las estrategias bioclimáticas de una vivienda dúplex en la ciudad de Durán. *Dominio de Las Ciencias*, 3(3), 865-883.
- Suñe, N., Sánchez, G., Caffaratti, S., & Maine, M. A. (2007). Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. *Environmental Pollution*, 145(2), 467-473. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.016>
- TULSMA. (2015). AM097-A Libro VI Anexol. Norma de calidad ambiental y descarga de efluentes : recurso agua.
- Verma, R., & Suthar, S. (2015). Lead and cadmium removal from water using duckweed - *Lemna gibba* L.: Impact of pH and initial metal load. *Alexandria Engineering Journal*, 54(5), 1297-1304. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2015.09.014>
- Wilkins, B. D. A. (1978). The Measurement of Tolerance To Edaphic Factors by Mean of Root Growth. *New Phytol*, 80, 623-633.
- Wolff, G., Pereira, G. C., Castro, E. M., Louzada, J., & Coelho, F. F. (2012). The use of *Salvinia auriculata* as a bioindicator in aquatic ecosystems: biomass and structure dependent on the cadmium concentration. *Brazilian Journal of Biology*, 72(1), 71-77. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22437387>