

Efectos del cadmio sobre la germinación y biomasa en variedades de caña de azúcar de la cuenca baja del guayas

Effects of Cadmium on Germination and Biomass in Sugarcane Varieties of the Lower Guayas Basin

Alejandro Gallardo C.¹, Beatriz Pernía S.², Mariuxi Mero V.², Ana Arellano L.³, Carla Risco V.^{4*}, Darío Alvarado N.⁴ & Henry Aguirre S.⁴

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

² *Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.*

³ *Directora del Centro de Investigación de Desarrollo de la Caña de Azúcar de la UNCE, kilómetro 53 Vía Durán-Tambo, El Triunfo, Ecuador.*

⁴ *Estudiante de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.*

Recibido 29 de marzo 2019; recibido en forma revisada 18 de mayo 2019, aceptado 1 de junio 2019
Disponibile en línea 26 de junio 2019

Resumen

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos del cadmio sobre la germinación y biomasa de cuatro variedades de caña de azúcar de la cuenca baja del Guayas, para proponer una modificación del límite máximo permisible de cadmio en suelos cultivados con esta especie. Se expusieron muestras de las variedades Ragnar, ECU-01, CC 85-92 y CC-22 al crecimiento durante 21 días en un medio contaminado con cinco concentraciones de cadmio (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L). El cadmio no presentó efectos sobre la germinación. Las radículas de las variedades Ragnar, ECU-01 y CC-22 fueron significativamente afectadas en todos los tratamientos, mientras que los hipocótilos presentaron afectación en los tratamientos de 2 y 8 mg/L en ECU-01 y 2 mg/L en CC-22. La biomasa se vio afectada únicamente en la variedad ECU-01, donde el tratamiento de 2 mg/L provocó una reducción del 51 % de esta. El índice integral de fitotoxicidad reveló que este metal resultó tóxico en todos los tratamientos de las cuatro variedades; por otro lado, el índice de tolerancia mostró que la variedad CC 85-92 fue la más tolerante, mientras que ECU-01 resultó menos tolerante a los efectos del cadmio. Finalmente, el índice de tolerancia y la biomasa de plántulas expuestas a experimentación con 0.25 mg/L, demostraron que a esta concentración ninguna de las variedades de caña de azúcar presentó afectaciones significativas, por lo que dicha concentración puede ser considerada como límite máximo permisible en suelos cultivados con la especie *Saccharum officinarum*.

Palabras claves: Caña de azúcar, índice de tolerancia, índice integral de fitotoxicidad, radículas, hipocótilos

Abstract

The aim of this research was to evaluate the effects of cadmium on the germination and biomass of four varieties of sugarcane from the lower basin of the Guayas river, in order to propose a modification in the maximum allowable limit of cadmium in soils cultivated with this specie. Samples of the varieties Ragnar, ECU-01, CC 85-92 and CC-22 were exposed to growth during 21 days in a contaminated environment with five concentrations of cadmium (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L). Cadmium did not have effects on germination. Radicles of the Ragnar, ECU-01 and CC-22 varieties were significantly affected in all the treatments, while the hypocotyls showed affectation in the treatments of 2 and 8 mg/L in ECU-01 and 2 mg/L in CC-22. The biomass was affected only in the ECU-01 variety, where the treatment of 2 mg/L caused a reduction of 51 % on it. The phytotoxicity integral index evidenced that the heavy metal was toxic in all the treatments of the four varieties; on the other hand, the tolerance index proved that CC 85-92 variety was the most tolerant, while ECU-01 was less tolerant to the effects of cadmium. Finally, the tolerance index and the biomass of seedlings exposed to experimentation with 0.25 mg/L, showed that to this concentration none of the varieties of sugarcane were affected significantly, so, that concentration can be considered as the maximum allowable limit in soils cultivated with the specie *Saccharum officinarum*.

Key words: Sugarcane, tolerance index, phytotoxicity integral index, radicles, hypocotyls

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



Introducción

La caña de azúcar es considerada uno de los cultivos agrícolas más importantes a nivel global, debido a que más de las tres cuartas partes de la materia prima necesaria para elaborar el azúcar de mesa, proceden de la caña (Organización Internacional del Azúcar, 2018). Según los registros de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2017), los sembríos de caña de azúcar se encuentran distribuidos ampliamente por el mundo, siendo los continentes americano y asiático los líderes en producción con el 55.7% y 37.2%, respectivamente.

Por su parte, en Ecuador la caña de azúcar destaca entre los cultivos permanentes líderes en producción y rendimiento, superando incluso a aquellos cultivos que cuentan con mayor área cosechada como el cacao y la palma africana. La distribución a nivel nacional se encuentra principalmente en la región Costa, la provincia del Guayas encabeza dicha distribución al abarcar el 82.8% del total, seguido por las provincias de Cañar y Loja, en la región Sierra (Instituto Nacional de Estadística y Censos, 2017).

La agricultura es uno de los principales eslabones que sostiene diariamente la economía del Ecuador; por ello es fundamental tomar en cuenta que los suelos agrícolas son fácilmente susceptibles a la contaminación por metales pesados como el cadmio, mediante productos de uso común en la actividad como los fertilizantes o por medio del riego de los cultivos con aguas contaminadas con este metal (Bak, Jensen, Larsen, Pritzl & Scott-Fordsmand, 1997; Grant & Sheppard, 2008; European Food Safety Authority, 2009).

En Ecuador existe evidencia objetiva de la contaminación de los suelos agrícolas del litoral con cadmio (Mite, Carrillo & Durango, 2010; Pozo, Sanfeliu & Carrera, 2011); incluso, su presencia ha sido detectada en la almendra de cacao superando los límites máximos permisibles inocuos para la salud humana (Acosta & Pozo, 2013). Además, se ha manifestado que algunos de los fertilizantes que son comercializados en el agro ecuatoriano, contienen niveles alarmantes de cadmio que superan de forma significativa los términos establecidos por entidades internacionales (Muñoz, 2017).

Entre los efectos del cadmio sobre los humanos descritos por Saxena, Azad y Shrinet (2016); Souza, Martínez, Bucio, Gómez y Gutiérrez (2012); Tchounwou, Yedjou, Patlolla y Sutton (2012), se encuentra el cáncer y consecuencias adversas en los huesos y los riñones. Por otro lado, en las plantas puede provocar desde el retardo de las funciones fisiológicas y morfológicas, hasta la muerte del vegetal en altas concentraciones (Alpizar & Cruz, 2012; Arenas & Hernández, 2012; Jali, Pradhan & Das, 2016). Estudios similares como el de Benavides et al. (2018), demostraron que el cadmio puede provocar impactos negativos en el crecimiento de las radículas de una variedad de mangle. Por otro lado,

Liu, Yang, Xie, Xia y Fan (2012) manifestaron que hay efectos contraproducentes sobre la germinación y el crecimiento de un arbusto de la especie *Suaeda salsa* sometido a la presencia de cadmio.

Para el efecto de este trabajo se seleccionaron esquejes de cuatro variedades de caña de azúcar, posteriormente, estos fueron expuestos por cuadruplicado durante 21 días y en un ambiente controlado al crecimiento en un medio de cultivo líquido contaminado con solución de cadmio en cinco concentraciones, 0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd, más un testigo (0 mg/L).

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos del cadmio sobre cuatro de las variedades comerciales de caña de azúcar más importantes de la cuenca baja del río Guayas, Ragnar, CC 85-92, ECU-01 y CC-22; específicamente aquellos efectos sobre la germinación y biomasa.

Materiales y Métodos

Material vegetal. Para seleccionar las muestras de las cuatro variedades de caña de azúcar cultivadas en la zona de influencia de la cuenca baja del río Guayas, se consideraron las variedades cuyos esquejes tuvieran entre siete y nueve meses edad, puesto que ese es el rango de tiempo que usualmente garantiza un mayor porcentaje de germinación al momento de su propagación. Otra característica que se tomó en cuenta para la selección de las muestras, fue la uniformidad en los diámetros de los esquejes.

Bioensayo. Para exponer las muestras a los diferentes tratamientos, se diseñó una metodología que consistió en atar cada muestra a un palillo de madera con dos cinchos, uno a cada lado de la yema. Se etiquetaron tarrinas de plástico con un código alusivo a cada variedad y concentración, y se colocaron las muestras en las tarrinas sujetas por el palillo. Posteriormente, cada tarrina se llenó con aproximadamente 400 ml de solución, de tal forma que las muestras quedaron semisumergidas por cuadruplicado en las soluciones de cadmio a distintas concentraciones (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd), además del grupo testigo que, asimismo por cuadruplicado quedó semisumergido en agua destilada. Las tarrinas fueron coladas en una cámara de germinación por un lapso de 21 días.

Porcentaje de germinación. Los esquejes se consideraron germinados una vez que apareció el hipocótilo. El tiempo de exposición de las variedades de caña de azúcar al medio de cultivo con distintas concentraciones de cadmio (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd) más un grupo control (0 mg/L Cd), fue de 21 días, sin embargo, para obtener la tasa de germinación se consideraron los 10 primeros días, el porcentaje se determinó según la fórmula de Cokkizgin y Cokkizgin (2010):

$$G = \frac{N - N_0}{N} \times 100$$

Pg: Porcentaje de germinación
n: Número de semillas germinadas

$$Pg = \frac{n}{N} \times 100$$

Índice integral de fitotoxicidad. Se determinó la toxicidad del cadmio sobre las diferentes variedades de caña de azúcar, empleando la fórmula propuesta por Pernía *et al.* (2018):

- SGM:** Número de semillas germinadas de la muestra, es el promedio del número de semillas germinadas en las cuatro réplicas para cada tratamiento (n = 4).
- SGC:** Número de semillas germinadas del control, es el promedio del número de semillas germinadas en las cuatro réplicas del testigo (n = 4).
- LRM:** Longitud de la radícula de la muestra, es el promedio de la medición en centímetros de las radículas de 10 plántulas por réplica de cada tratamiento (n = 40).
- LRC:** Longitud de la radícula del control, es el promedio de la medición en centímetros de las radículas de 10 plántulas por réplica del testigo (n = 40).
- LHM:** Longitud del hipocótilo de la muestra, es el promedio de la medición en centímetros de los hipocótilos de 10 plántulas por réplica de cada tratamiento (n = 40).
- LHC:** Longitud del hipocótilo del control, es el promedio de la medición en centímetros de los hipocótilos de 10 plántulas por réplica del testigo (n = 40).

Índice de tolerancia. Se determinó según la ecuación propuesta por Wilkins (1978):

$$IT = \frac{LRC - LRM}{LRC} \times 100$$

LHm: Biomasa de los hipocótilos de las plántulas que crecieron en presencia del cadmio.
LHc: Biomasa de los hipocótilos de las plántulas en ausencia del cadmio.

Análisis estadístico. Los resultados se muestran como promedios ± desviación estándar. Se determinó la normalidad de los datos utilizando la prueba de Anderson-Darling y la igualdad de varianza mediante el test de Levene. Se compararon las medias entre tratamientos y variedades utilizando una prueba ANOVA de una vía, tomando p<0.05 como valor significativo y los resultados se verificaron por medio de la prueba de significancia de Tukey. Para todos los análisis estadísticos se utilizó el programa Minitab versión 17.0., los gráficos se realizaron en el software OriginPro versión 8.0.

Resultados y Discusión

Efectos de diferentes concentraciones de cadmio (0,5, 1, 2, 4 y 8 mg/L) sobre la germinación

El cadmio no afectó la germinación en ninguna de las cuatro variedades estudiadas, puesto que todas alcanzaron el 100% de la tasa de germinación en todos los tratamientos, no obstante, la variedad Ragnar presentó disminución en la velocidad de esta, finalizando la germinación en un mayor número de días. Este resultado es similar a los hallados por otros autores que no reportaron inhibición en la germinación de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* (Benavides *et al.*, 2018), *Helianthus annuus* L. (Aycicek *et al.*, 2008), *Agave lechuguilla* (Méndez, 2010), *Theobroma cacao* L. var. CMP-99, CMP-15 y CCN-51 (Acosta, 2013) y *Axonopus affinis* (Escalante *et al.*, 2012) (Figura 1).

Efectos de diferentes concentraciones de cadmio (0,5, 1, 2, 4 y 8 mg/L) sobre la longitud y biomasa de las radículas e hipocótilos

La longitud de las radículas fue la variable que se vio más significativamente afectada desde el tratamiento

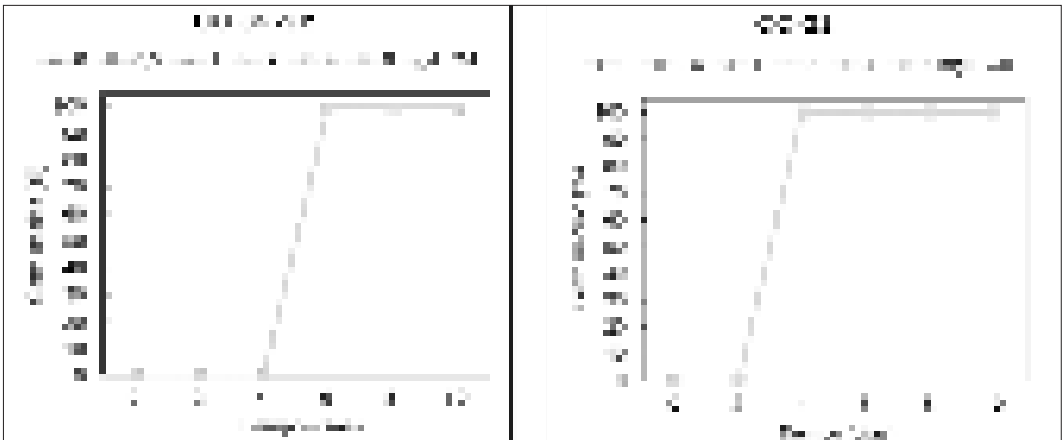


Figura 1. Tasa de germinación de las variedades de caña de azúcar CC 85-92, CC-22, ECU-01 y Ragnar, expuestas a diferentes concentraciones de cadmio (0,5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd) más un grupo control (0 mg/L Cd). (parte 1)

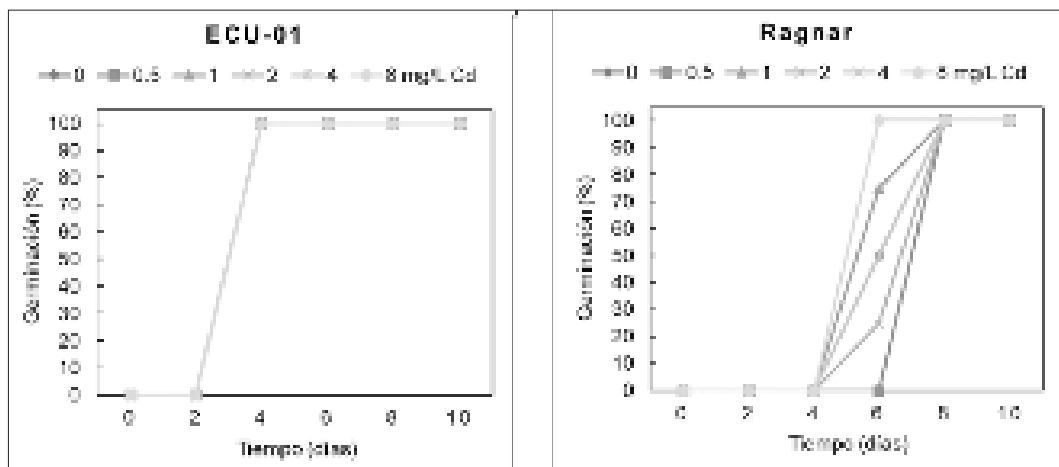


Figura 1. Tasa de germinación de las variedades de caña de azúcar CC 85-92, CC-22, ECU-01 y Ragnar, expuestas a diferentes concentraciones de cadmio (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd) más un grupo control (0 mg/L Cd). (parte 2)

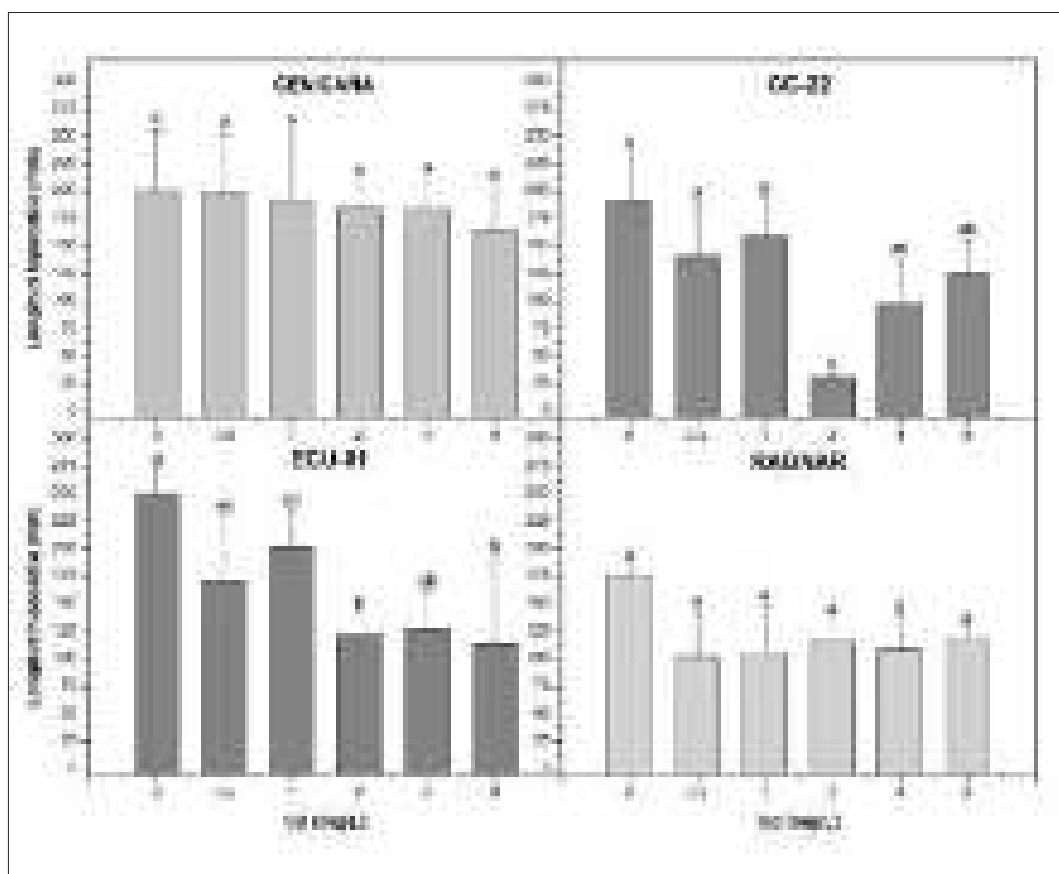


Figura 2. Longitud de las radículas de las variedades de caña de azúcar CC 85-92, CC-22, ECU-01 y Ragnar, expuestas a diferentes concentraciones de cadmio (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd) más un grupo control (0 mg/L Cd). Los resultados se muestran como medias±error estándar (n=4). Asterisco (*) Indica diferencias significativas con respecto al promedio de la longitud de la radícula de los demás tratamientos ($p < 0.05$).

con menor concentración de cadmio (0.5 mg/L), y de forma general en las variedades ECU-01, CC-22 y Ragnar; además, disminuyó conforme aumentaba la concentración, llegando a inhibirse completamente en el tratamiento de 8 mg/L (Figura 2). Este caso podría ser comparable con el reportado en los resultados de Benavides *et al.* (2018), donde *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* presentó afectación en la longitud de las radículas en concentraciones de 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd, similares a las del presente estudio.

Por otro lado, la longitud de los hipocótilos fue el parámetro que menos mostró afectación, únicamente las variedades CC-22 a 2 mg/L y ECU-01 a 2 y 8 mg/L presentaron disminución en su elongación (Figura 3).

La fitotoxicidad del cadmio suele verse reflejada en los hipocótilos con menor intensidad en comparación con las raíces; esto se corrobora en los resultados de Liu *et al.* (2012), donde la raíz de la especie *Suaeda salsa* presentó una disminución significativa en la longitud desde el tratamiento de 0.1 mg/L de cadmio, mientras que el hipocótilo mostró diferencias significativas en el tratamiento de 1 mg/L. Según lo planteado por Breckle (1991), los síntomas de fitotoxicidad del cadmio son expresados de forma más clara en las raíces debido al mayor grado de acumulación de met-

ales pesados en ellas, ya que constituyen una barrera de defensa para la planta mediante la inmovilización del metal.

A pesar de que en la variedad CC 85-92 hubo ausencia de raíces en todos los tratamientos y en el grupo control, lo cual puede ser atribuido a una incorrecta selección de los esquejes con la edad apropiada (entre siete y nueve meses), la longitud de las raíces fue un buen indicador de los efectos del cadmio. Debido a la escasez de biomasa de las radículas, el cálculo general de la biomasa se realizó únicamente considerando el peso seco de los hipocótilos, siendo esta la variable menos afectada de este estudio, puesto que únicamente la variedad ECU-01 mostró una reducción significativa de 51.30 % en el tratamiento de 2 mg/L (Figura 4).

Índice integral de fitotoxicidad e índice de tolerancia

El índice integral de fitotoxicidad reúne los efectos provocados sobre la germinación y la longitud de las radículas e hipocótilos, mostrando de manera holística la toxicidad generada durante el tiempo de exposición. El cadmio resultó tóxico en todas las variedades estudiadas, desde el tratamiento con menor concentración (0.5 mg/L) hasta el mayor (8

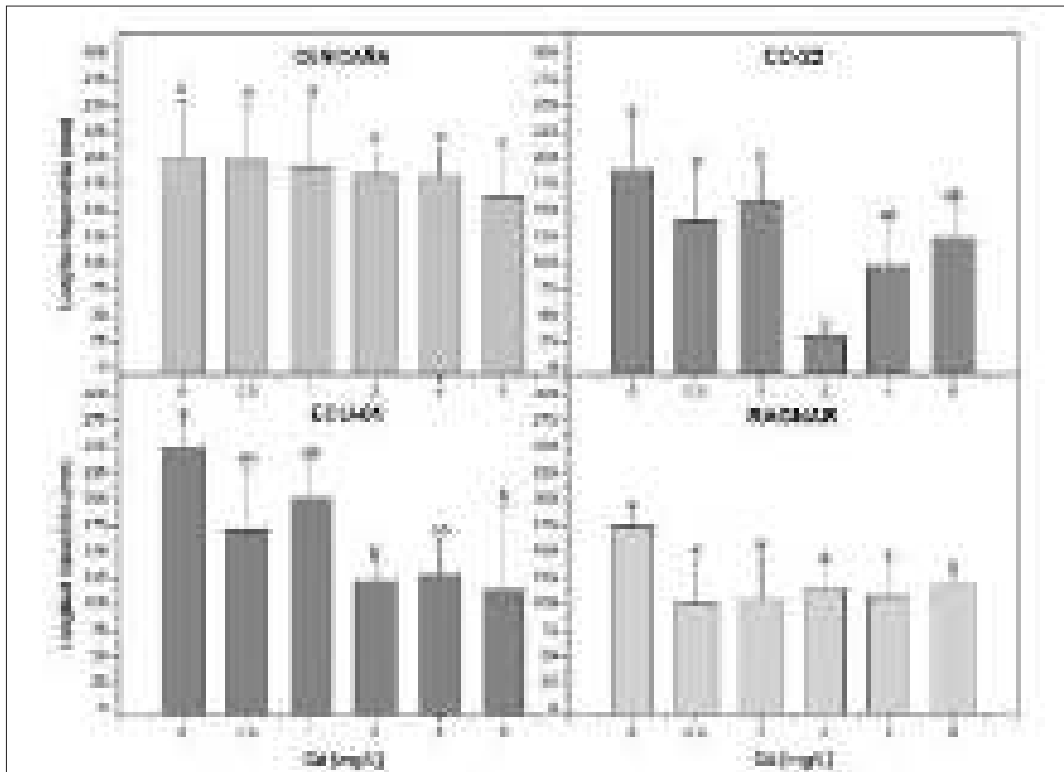


Figura 3. Longitud de los hipocótilos de las variedades de caña de azúcar CC 85-92, CC-22, ECU-01 y Ragnar, expuestas a diferentes concentraciones de cadmio (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd) más un grupo control (0 mg/L). Los resultados se muestran como medias \pm error estándar (n=4). Letras iguales indican que no existen diferencias significativas con respecto al promedio de la longitud de los demás tratamientos ($p \geq 0.05$).

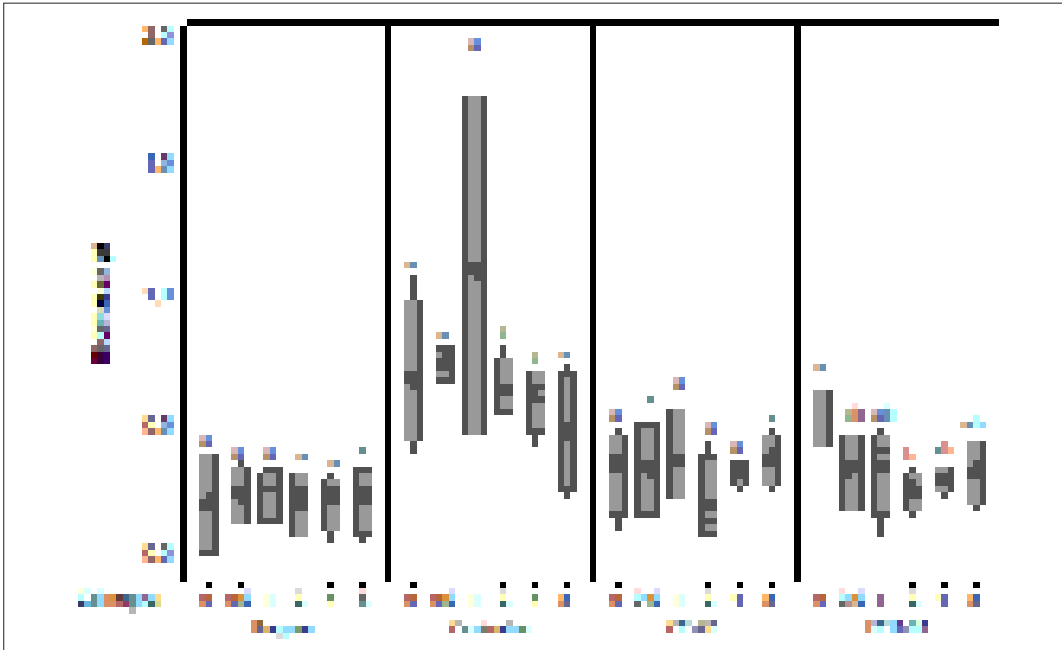


Figura 4. Biomasa de los hipocótilos de las variedades de caña de azúcar CC 85-92, CC-22, ECU-01 y Ragnar, expuestas a diferentes concentraciones de cadmio (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd) más un grupo control (0 mg/L). Los resultados se muestran como medias±error estándar (n=4). Letras iguales indican que no existen diferencias significativas con respecto al promedio de la biomasa de los demás tratamientos ($p \geq 0.05$).

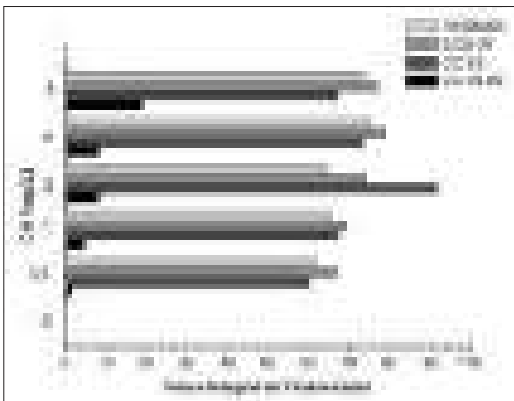


Figura 5. Índice integral de fitotoxicidad de las variedades de caña de azúcar CC 85-92, CC-22, ECU-01 y Ragnar, expuestas a diferentes concentraciones de cadmio (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd) más un grupo control (0 mg/L).

mg/L), es decir, es nocivo incluso al nivel permitido por la legislación ecuatoriana (0.5 mg/kg) (Figura 5).

Considerando que en suelos de la Costa se han reportado niveles de cadmio que superan los 2 mg/kg (Mite et al., 2010; Muñoz, 2017), se presume que la producción y el rendimiento de este cultivo permanente, que no solo es importante para cubrir la demanda alimenticia, sino también para la generación de etanol anhidro empleado en la gasolina Ecopaís, estarían siendo afectados por la contaminación

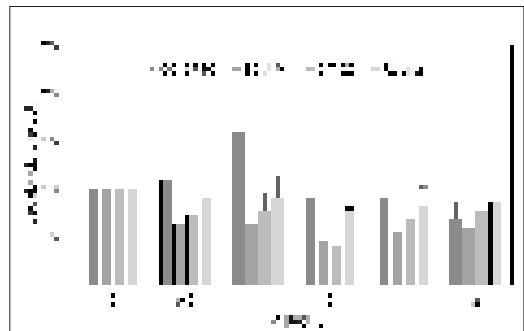


Figura 6. Índice de tolerancia de las variedades de caña de azúcar CC 85-92, CC-22, ECU-01 y Ragnar, expuestas a diferentes concentraciones de cadmio (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd) más un grupo control (0 mg/L).

por cadmio. Cabe mencionar que el índice integral de fitotoxicidad de la variedad CC 85-92 fue significativamente menor en todos los tratamientos comparado con las demás variedades, no llegando a superar el 20 % en la concentración de 8 mg/L.

De forma complementaria, esta variedad no solo fue la más tolerante a todos los tratamientos de cadmio, sino también fue la única en presentar una respuesta hormética, que se manifestó como un estímulo en su crecimiento a 0.5 y 1 mg/L (Figura 6).

Este resultado es similar al reportado por Escalante *et al.* (2012), donde se observó que a 1 mM de cadmio, la especie *Axonopus affinis* superó el porcentaje de germinación y crecimiento, y además mostró mayor tolerancia al metal en comparación con el testigo.

Otro caso que sostiene este planteamiento es el de Labra *et al.* (2012), quienes observaron que a 0.01 mM de cadmio se promovía el crecimiento de la radícula en un 289 % más que el testigo en plántulas de *Cyperus elegans*.

Los hechos anteriores sugieren que algunos metales pesados independientemente de sus propiedades tóxicas para el funcionamiento de las plantas, en cantidades ínfimas pueden tener un efecto contrario y actuar como estimuladores del crecimiento. Este fenómeno es conocido como principio de homeopatía o efecto Arndt-Schulz, el cual propone que “Pequeñas dosis estimulan la capacidad vital, medianas la retardan y las grandes la paralizan” (Instituto Comenius, 2007).

Por otro lado, se ha comprobado que la tolerancia de las plantas a los metales pesados está directamente relacionada con la activación de una compleja red de defensa antioxidante, que incluye reacciones de enzimas y moléculas antioxidantes como el ascorbato (ASC) y el glutatión (GSH), las cuales actúan regulando las especies reactivas de oxígeno (ERO), mismas que se producen en presencia del contaminante y que a niveles desequilibrados llegan a causar estrés oxidativo, lo que se define como el efecto tóxico o daño sobre estructuras celulares de la planta (Peralta & Volke, 2012).

Por lo antes expuesto, se asume que la variedad CC 85-92 presentó tales niveles de tolerancia al cadmio debido a la efectividad de la red antioxidante que pudo haber sido estimulada ante la presencia de especies reactivas de oxígeno (ERO) producidas en los tratamientos de menor concentración de cadmio (0.5 y 1 mg/L).

Conclusiones

El cadmio no mostró efectos negativos sobre la germinación, considerando que las variedades de la especie *Saccharum officinarum* presentaron el 100% de la tasa de germinación en cada uno de los cinco tratamientos (0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd), no obstante, las variedades ECU-01 y CC-22 alcanzaron dicha tasa en un menor número de días (cuatro días), en comparación con la variedad CC-85-92, cuyas muestras germinaron en su totalidad en el sexto día, y la variedad Ragnar, misma que requirió el mayor número de días para lograr el 100% de la germinación (ocho días).

En las variedades CC-22, ECU-01 y Ragnar, el cadmio redujo de forma significativa la longitud de las

radículas de todos los tratamientos comparados con el testigo.

En las variedades CC-85-92 y Ragnar, el cadmio no presentó efectos significativos sobre la longitud de los hipocótilos. Las consecuencias negativas del cadmio se vieron reflejadas sobretudo en la variedad ECU-01, donde los hipocótilos a 2 y 8 mg/L sufrieron importantes efectos en su elongación. En la variedad CC-22, el cadmio resultó contraproducente de forma significativa para el crecimiento de los hipocótilos únicamente en el tratamiento de 2 mg/L Cd.

El cadmio generó efectos negativos solamente sobre la biomasa de los hipocótilos del tratamiento de 2 mg/L de la variedad ECU-01, las variedades restantes no presentaron afectación sobre este parámetro.

Según el índice integral de fitotoxicidad, el cadmio resultó tóxico en todos los tratamientos de las cuatro variedades de *Saccharum officinarum*. La variedad CC 85-92 fue la única en presentar síntomas de toxicidad directamente proporcionales a la concentración del metal en cuestión, los cuales aun a la mayor concentración de exposición (8 mg/L Cd), no sobrepasaron el 20%.

El índice de tolerancia reveló que la variedad CC 85-92 no solo fue la más tolerante a los efectos del cadmio en cuatro de las cinco concentraciones estudiadas (0.5, 1, 2 y 4 mg/L Cd), sino también que fue la única en mostrar estímulos de crecimiento en las concentraciones de 0.5 y 1 mg/L Cd. La variedad ECU-01 resultó ser la menos tolerante a los efectos de este metal pesado, puesto que a partir de la menor concentración (0.5 mg/L Cd), la tolerancia se redujo hasta cerca del 40%.

Referencias

- Acosta, A. (2013). Efecto del sulfato de cadmio en la germinación y el crecimiento de plántulas de cacao (*Theobroma cacao* L.). Investigación y Amazonia, 3 (1), 20-29.
- Acosta, S., & Pozo, P. (2013). Determinación de cadmio en la almendra de cacao (*Theobroma cacao*) de cinco fincas ubicadas en la vía Santo Domingo - Esmeraldas, mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito. Infoanalítica, 1 (1), 69-82.
- Alpizar, A. G., & Cruz, G. (2012). Evaluación de la toxicidad de cadmio en las semillas de huizache yóndiro (*Acacia farnesiana*) recolectadas en jales mineros. Recuperado de <http://www.academicos.ugto.mx/memoria/PDF/s203-27.PDF>
- Arenas, S., & Hernández, S. (2012). Fitotoxicidad del cadmio (Cd) y el mercurio (Hg) en la especie *Brassica nigra* (tesis de pregrado). Universidad de Medellín, Medellín, Colombia.
- Aycicek, M., Kaplan, O., & Yaman, M. (2008). Effect of cadmium on germination, seedling growth and metal contents of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Asian Journal of Chemistry, 20 (4), 2663-2672. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.08.033>
- Bak, J., Jensen, J., Larsen, M. M., Pritzl, G., & Scott-Fordsmand, J. (1997). A heavy metal monitoring-programme in Denmark. Science of the Total Environment,

- 207 (2-3), 179-186.
- Benavides, A., Del Pezo, R., Pernía, B., Mero, M., Cornejo, X., Magallanes, I., Romero, B., & Zambrano, J. (2018). Efecto del cadmio sobre la germinación y crecimiento de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* (Plantae-Combretaceae). *Ecovida*, 8 (1), 39-52.
- Breckle, S. (1991). Growth under stress. Heavy metals. In: *Plant Roots: The Hidden Half*, Marcel Dekker, New York, 351-373.
- Cokkizgin, A., & Cokkizgin, H. (2010). Effects of lead (PbCl₂) stress on germination of lentil (*Lens culinaris* Medic.) lines. *African Journal of Biotechnology*, 9 (50), 8608-8612. <https://doi.org/10.5897/AJB10.890>
- Escalante, S., Rodríguez, A., Vásquez, M. S., Rodríguez, A. V., Guerro, L. A., Pérez, N. O., Franco, M. O., & Ponce, A. (2012). Evaluación del efecto de cadmio sobre la germinación y elongación radical de semillas bacterizadas de *Axonopus affinis* y *Festuca rubra*. *Polibotánica*, 34, 205-221.
- European Food Safety Authority. (2009). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on cadmium in food. *The EFSA Journal*, 980, 1-139. <https://doi.org/doi:10.2903/j.efsa.2009.980>
- Grant, C. A., & Sheppard, S. C. (2008). Fertilizer impacts on cadmium availability in agricultural soils and crops. *Human and Ecological Risk Assessment*, 14 (2), 210-228. DOI: 10.1080/10807030801934895
- Instituto Comenius. (2007). *Manual de agrohomeopatía*. Impreso en Monterrey, Nuevo León, México.
- Instituto Nacional de Estadística y Censos. (2017). Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua 2017. Recuperado de http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac_2017/Informe_Ejecutivo_ESPAC_2017.pdf
- Jali, P., Pradhan, C., & Das, A. B. (2016). Effects of cadmium toxicity in plants: A review article. *Scholars Academic Journal of Bioscience*, 4 (12), 1074-1081. <https://doi.org/10.21276/sajb.2016.4.12.3>
- Labra, D., Guerrero, L., Rodríguez, A. V., Montes, S., Pérez, S., & Rodríguez, A. (2012). Respuesta de crecimiento y tolerancia a metales pesados de *Cyperus elegans* y *Echinochloa polystachya* inoculadas con una rizobacteria aislada de un suelo contaminado con hidrocarburos derivados del petróleo. *Plant Physiology*, 28 (1), 7-16.
- Liu, S., Yang, C., Xie, W., Xia, C., & Fan, P. (2012). The effects of cadmium on germination and seedling growth of *Suaeda salsa*. *Procedia Environmental Science*, 16, 293-298. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2012.10.041>
- Méndez, C. A. (2010). Efecto de Cd disuelto en agua en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de *Agave lechuguilla* provenientes de zonas con diferente nivel de contaminación por metales (tesis de maestría). Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C., San Luis Potosí, México.
- Mite, F., Carrillo, M., & Durango, W. (2010). Avances del monitoreo de presencia de cadmio en almendras de cacao, suelos y aguas de Ecuador. XII Congreso ecuatoriano de la ciencia del suelo. 17-19.
- Muñoz, J. (2017). Determinación de cadmio en fertilizantes, plantas de *Oryza sativa* L. y suelos de la provincia del Guayas: Propuesta de saneamiento (tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador. Recuperado de http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/17569/1/TESIS_JORGE_MUNOZ_2017.pdf
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2017).
- Organización Internacional del Azúcar. (2018). Main features of the world sugar economy. Recuperado de <https://www.isosugar.org/publication/122/sugar-yearbook-2018>
- Peralta, M., & Volke, T. (2012). La defensa antioxidante en las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11 (1), 75-88.
- Pernía, B., Rojas-Tortolero, D., Sena, L., De Sisto, A., Inojosa, Y., & Leopoldo, N. (2018). Fitotoxicidad de HAP, crudos extra pesados y sus fracciones en *Lactuca sativa*: una interpretación integral utilizando un índice de toxicidad modificado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34 (1), 79-91.
- Pozo, W., Sanfeliu, T., & Carrera, G. (2011). Metales pesados en humedales de arroz en la cuenca baja del Río Guayas. *Maskana*, 2 (1), 17-30.
- Saxena, R., Azad, C., & Shrinet, K. (2016). Effect of heavy metal pollutants on human population: an overview. *International Research Journal of Management Science and Technology*, 7 (3), 116-124.
- Souza, V., Martínez, K., Bucio, L., Gómez, L., & Gutiérrez, M. (2012). Liver and cadmium toxicity. *Journal of Drug Metabolism and Toxicology*, 55:001. Doi: 10.4172/2157-7609.55-001
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Molecular, Clinical and Environmental Toxicology, 101, 1-30. <https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4>
- Wilkins, D. A. (1978). The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytol*, 80, 623-633.