

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD
FITORREMIADORA DE CADMIO DEL CAMACHO
(*Xanthosoma undipes* Koch) ESPECIE VEGETAL NATIVA
EN EL ÁREA DE INFLUENCIA DE EP PETROECUADOR
EN EL DISTRITO AMAZÓNICO**

Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

JORGE JAVIER MUSO CACHUMBA

SANGOLQUÍ, 12 DE DICIEMBRE DEL 2012

HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS

ELABORADO POR

Jorge Javier Muso Cachumba

DIRECTORA DE LA CARRERA

Ing. Grace Tatiana Páez Barrera

Sangolquí, 12 de Diciembre del 2012

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por el Sr. JORGE JAVIER MUSO CACHUMBA como requerimiento parcial a la obtención del título de INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA.

Sangolquí, 12 de diciembre del 2012

M. Sc. Mónica Jadán G.
DIRECTORA

Ing. M. Sc. Norman Soria I
CODIRECTOR

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Jorge Javier Muso Cachumba

Declaro que:

El proyecto de grado denominado DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMEDIADORA DE CÁDMIO DEL CAMACHO (*Xanthosoma undipes* Koch) ESPECIE VEGETAL NATIVA EN EL ÁREA DE INFLUENCIA DE EP PETROECUADOR EN EL DISTRITO AMAZÓNICO, ha sido desarrollado con base a una investigación exhaustiva, respetando derechos intelectuales de terceros, conforme a las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de mi autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del proyecto de grado en mención.

Sangolquí, 12 de diciembre del 2012

Jorge Javier Muso Cachumba

AUTORIZACIÓN

Yo, Jorge Javier Muso Cachumba

Autorizo a la Escuela Politécnica del Ejército la publicación, en la biblioteca virtual de la Institución del trabajo DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD FITORREMIADORA DE CADMIO DEL CAMACHO (*Xanthosoma undipes* Koch) ESPECIE VEGETAL NATIVA EN EL ÁREA DE INFLUENCIA DE EP PETROECUADOR EN EL DISTRITO AMAZÓNICO, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Sangolquí, 12 de diciembre del 2012

Jorge Javier Muso Cachumba

DEDICATORIA

*A Dios y a mi Lolita
por el maravilloso regalo de la vida.*

A mis amados padres

*Anita y Jorge
por ser el motor de ese regalo,
por su infinito amor.*

Jorge Javier Muso Cachumba

AGRADECIMIENTO

A Dios por sus eternas bendiciones, por permitirme llegar a este importante momento en mi vida, por darme la sabiduría y la fuerza para superar todas las adversidades, por ser mi padre en el cielo.

A mí amada Lolita por esa mirada llena de amor con la que día a día me protege, porque desde el día en que me tomó en sus brazos nunca me soltó.

A mi mami Anita y a mi papi Jorge por ser la razón de mi vida, por guiarme, por haberme formado, porque a pesar de los problemas nunca renunciaron a convertirme en un hombre de bien. Gracias por su ejemplo, por sus consejos, por su infinito apoyo, por sus esfuerzos, pero sobre todo por su incansable amor.

A mi nañito Erik, porque a pesar de ser el menor ha sido un ejemplo de vida para mí; por ser esa persona íntegra y única, por ser de esos que ya no hay. A mi pequeña Cami, simplemente por ser parte de mí. Los amo.

A todo el personal de PETROECUADOR y a mis amigos tesistas Andrey, Boris e Yrina, por hacer mucho más fácil el día a día de mi tesis; a todo el los profesionales del CITVAS por todos los conocimientos que sin reparo me brindaron, por su apoyo pero por sobre todo por su amistad. De manera especial a Anita por su infinita ayuda, sinceramente sin ella nada de esto habría sido posible.

A mi directora M. Sc. Mónica Jadán y al Ing. Norman Soria, mi codirector, por su ayuda, consejos, aportes y recomendaciones. Gracias por su esfuerzo para formar profesionales de excelencia.

Al Ing. Jaime Gía y a la Dra. Blanca Naranjo por su ayuda desinteresada en la elaboración de varios de los análisis, gracias por brindarme sus conocimientos.

A la Escuela Politécnica del Ejército, por haber sido el templo de enseñanza que me formó como un profesional íntegro, ético y capaz para el bienestar del país.

A Grace, por su apoyo incondicional, por su aguante, porque me inyectó fuerza cuando pensaba que desfallecía, porque siempre estuvo para mí cuando más lo necesité, en definitiva por su amor.

A mis primos Darío, Alfre, Paco, Verito, Belén, Gladys, Freddy, Joel, Vicky, Mishel, Gaby, Doris, y todos los demás, por ser esos amigos que no escogí. Ser el primer ingeniero de la familia me da la seguridad que no seré el único, espero ser un humilde ejemplo para todos.

A mis familiares, tíos, padrinos, abuelos, gracias por formar ese seno familiar único al que orgullosamente pertenezco, por ese pilar que me ha inculcado valores y educación, gracias por ser parte de mi formación.

A mi madrina Magaly por ser como una madre para mí siempre, a mi tía Sandy por esa sonrisa y por su alegría única.

A mi abuelo Alfredo y a mi tío Enrique por sus sabios consejos, sé que donde quiera que estén estarán muy orgullosos de mí.

A mis grandes amigos, las mires, las soles, los marlons, los tontos, las natashas, los titis y todos los demás que no tienen un grupo específico pero que para mí son únicos, estaré eternamente agradecido por tantos buenos momentos, por las risas, por los llantos, por los éxitos y derrotas, porque juntos hemos logrado alcanzar una meta; gracias por formar parte de mi vida, los amo. A esa persona que con paciencia supo guiarme en el momento crucial de elegir mi tesis, le debo la vida y este éxito.

A ese ángel que todos tenemos en el cielo, Gabriel, mi querido amigo Niño, simplemente cambiaste la vida de todos tus amigos a quienes siempre diste lo mejor de ti, algún día volveremos a vernos.

Jorge Javier Muso Cachumba

ÍNDICE DE CONTENIDOS

HOJA DE LEGALIZACIÓN DE FIRMAS.....	II
CERTIFICACIÓN	III
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD	IV
AUTORIZACIÓN.....	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTO	VII
LISTADO DE FIGURAS	XIII
LISTADO DE CUADROS	XVII
NOMENCLATURA	XIX
RESUMEN	XXII
ABSTRACT	XXIII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Formulación del problema	1
1.2. Justificación e importancia del problema a resolver	2
1.3. Objetivos.....	6
1.3.1. General.....	6
1.3.2. Específicos	6
1.4. Marco referencial	7
1.4.1. Suelo	7
1.4.2. Petróleo	10
1.4.3. Impactos de la industria hidrocarburífera en el suelo	11
1.4.4. Metales pesados	13
1.4.5. Plantas hiperacumuladoras de metales pesados	18
1.4.6. Cadmio	18

1.4.7. Fitorremediación.....	21
1.4.8. El estrés en vegetales	25
1.4.9. Descripción de las especies vegetales utilizadas en el proyecto.....	26
1.5. Hipótesis.....	45
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
2.1. Participantes.....	47
2.2. Zona de Estudio.....	48
2.2.1. Campos de la provincia de Francisco de Orellana en la ciudad Joya de los Sachas.....	48
2.2.2. Centro de investigaciones de tecnologías ambientales.....	48
2.2.3. Escuela Politécnica del Ejército.....	48
2.3. Período de tiempo de investigación.....	48
2.4. Diseño	49
2.4.1. Primera etapa de la investigación: Determinación de la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch)	49
2.4.2. Segunda etapa de la investigación: Ensayo en campo con especies vegetales con potencial fitorremediador.....	49
2.5. Metodología	50
2.5.1. Primera etapa de la investigación: Determinación de la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch)	50
2.5.2. Segunda Etapa: Ensayo en campo con especies vegetales con potencial fitorremediador.....	59
2.6. Análisis de datos.....	63
3. RESULTADOS.....	64
3.1. Primera etapa de la investigación: Determinación de la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch)	64
3.1.1. Tasa de remoción cadmio por parte del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch)	64

3.1.2. Análisis de clorofila y carotenoides de la especie vegetal	69
3.1.3. Análisis de la actividad antioxidante mediante la técnica del.....	71
3.1.4. Datos Fisiológicos	74
3.2. Segunda etapa de la investigación: Ensayo en campo con especies vegetales con potencial fitorremediador.....	75
3.2.1. Elaboración de la plataforma para el ensayo de fitorremediación	75
3.2.2. Tasa de remoción de cadmio por parte de cada una de las especies utilizadas en la plataforma de fitorremediación	76
4. DISCUSIÓN.....	82
5. CONCLUSIONES.....	92
6. RECOMENDACIONES	94
7. BIBLIOGRAFÍA.....	96

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1 Principales fuentes de procedencia de metales pesados en suelos (Mas y Azcúe, 1993).....	14
Figura 1.2 Representación esquemática de los mecanismos de ingreso, secuestro y translocación del Cd en raíces (Clemens, 2006).	20
Figura 1.3 Tipos de fitorremediación (Usepa, 1996).	22
Figura 1.4 Distribución geográfica de la familia Araceae (Facena Unne, 2007).....	28
Figura 1.5 Fotografía de Camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) en la provincia de Orellana, ciudad la Joya de los Sachas (Musó, 2012).....	31
Figura 1.6 Distribución geográfica de la familia Cyperaceae (Facena Unne, 2007).	33
Figura 1.7 Fotografía de Cabezona (<i>Cyperus aggregatus</i>) en la provincia de Orellana, ciudad la Joya de los Sachas (Musó, 2012).	35
Figura 1.8 Distribución geográfica de la familia Asteraceae (Freire Fierro, 2004).....	37
Figura 1.9 Inflorescencia racemosa: capítulo en girasol (<i>Helianthus annuus</i>) (Gonzalez y Arbo, 2008).	38
Figura 1.10 Distribución geográfica de la familia Poaceae (Facena Unne, 2007).....	41
Figura 1.11 Inflorescencia de dalis (<i>Brachiaria decumbens</i>) (Salamanca, 1983).....	44

Figura 1.12 Maíz (<i>Zea mays</i>) (Yáñez, 2007).....	45
Figura 2.1 Fotografía de una planta de camacho lista para su plantación (Musso, 2012).....	51
Figura 2.2 Fotografía de la estructura de la plataforma cubierta con geomembrana (Musso, 2012).....	59
Figura 2.3 Fotografía del sistema de drenaje en cada uno de los cubetos (Musso, 2012).....	60
Figura 2.4 Fotografía de la plataforma lista para la plantación y siembra de especies vegetales y montaje del ensayo (Musso, 2012).....	61
Figura 2.5 Fotografía de la administración de la solución de Cd en cada cubeto (Musso, 2012).....	61
Figura 2.6 Fotografía de la estabilización del suelo con la solución de Cd (Musso, 2012).....	62
Figura 2.7 Fotografía de la siembra de cabezona (derecha) y camacho (izquierda) (Musso, 2012).....	63
Figura 3.1 Curva de la remoción de Cd del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) por tratamiento (Musso, 2012).....	65
Figura 3.2 Gráfica de puntos de desviación estándar para la tasa de remoción por parte del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) (Musso, 2012).....	66
Figura 3.3 Porcentaje de la concentración de Cd presentes en parte aérea y raíz de plantas de camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) (Musso, 2012).	67

Figura 3.4 Acumulación de Cd en la parte aérea del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) con respecto al tiempo (Musó, 2012).	68
Figura 3.5 Acumulación de Cd en la raíz del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) con respecto al tiempo (Musó, 2012).	69
Figura 3.6 Gráfica de puntos de desviación estándar para los valores de clorofila a, clorofila b y carotenoides al inicio del estudio en los extractos de camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) (Musó, 2012).	70
Figura 3.7 Gráfica de puntos de desviación estándar para los valores de clorofila a, clorofila b y carotenoides al final del estudio en los extractos de camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) (Musó, 2012).	71
Figura 3.8 Gráfica de puntos de desviación estándar para la [DPPH] al inicio y al término del estudio en los extractos de camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) (Musó, 2012).	72
Figura 3.9 Gráfico de barras del porcentaje de AERL inicial y final (Musó, 2012).	73
Figura 3.10 Gráfico de barras del porcentaje de la [DPPH] inicial y final (Musó, 2012).	74
Figura 3.11 Dimensiones y características de la plataforma de fitorremediación (Musó, 2012).	76
Figura 3.12 Porcentaje de la remoción de Cd de las especies estudiadas en la plataforma de fitorremediación (Musó, 2012).	78

Figura 3.13 Porcentaje de la concentración de Cd presentes en parte aérea y raíz de especies vegetales utilizadas en la plataforma de fitorremediación (Muso, 2012).....	79
Figura 3.14 Gráfico de puntos de la desviación estándar de la concentración de Cd presente en la parte aérea y raíz de las especies vegetales (Muso, 2012).....	80
Figura 3.15 Gráfico de puntos de la desviación estándar de la concentración de Cd presente en el suelo al inicio y al fin del estudio (Muso, 2012).....	81

LISTADO DE CUADROS

Tabla 1.1 Taxonomía del Camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) (Royal Botanic Gardens, 2009).	31
Tabla 1.2 Taxonomía de la Cabezona (<i>Cyperus aggregatus</i>) (Fedón, 2007).	35
Tabla 1.3 Taxonomía del girasol (<i>Helianthus annuus</i>) (Krarup y Moreira, 1998).	39
Tabla 1.4 Taxonomía de dalis (<i>Brachiaria decumbens</i>) (León, 1987).	43
Tabla 1.5 Taxonomía del maíz (<i>Zea mays</i>) (Yáñez, 2007).	45
Tabla 2.1 Parámetros para la digestión asistida por microondas de muestras vegetales (US-Environmental-Protection-Agency, 1996).	53
Tabla 2.2 Parámetros para la digestión asistida por microondas de muestras de suelo (US-Environmental-Protection-Agency, 2007).	54
Tabla 2.3 Preparación de soluciones estándar de cadmio (Musó, 2012).	54
Tabla 2.4 Características del Espectrofotómetro iCE 3000 SERIES para análisis de Cd (Thermo-Fisher-Scientific, 2008).	56
Tabla 2.5 Soluciones de Cd a diferentes concentraciones (Musó, 2012).	57
Tabla 3.1 Porcentaje de remoción de Cd del camacho (<i>Xanthosoma undipes</i> Koch) en los diferentes tratamientos (Musó, 2012).	64

Tabla 3.2 Valores de la [DPPH] y del porcentaje de actividad estabilizadora de radicales libres (AERL) al inicio y al final del estudio (Musó, 2012).....	73
Tabla 3.3 Promedios de los valores de altura, masa vegetal total, masa de parte aérea y masa de raíz para cada uno de los tratamientos y tiempos de exposición (Musó, 2012).....	75
Tabla 3.4 Datos de la presencia de plantas de cada una de las especies vegetales en estudio (Musó, 2012).....	77
Tabla 3.5 Porcentaje de remoción de Cd de las especies vegetales en la plataforma de fitorremediación (Musó, 2012).....	78
Tabla 3.6 Características del comportamiento del girasol en la remoción de Cd de suelo presente en la plataforma de fitorremediación (Musó, 2012).....	81

NOMENCLATURA

$(\text{CO}_3)^{2-}$	Radical carbonato
$(\text{OH})^-$	Radical hidroxilo
$(\text{SO}_4)^{2-}$	Ion sulfato
[Cd]	Concentración de Cadmio
[DPPH]	Concentración de 2,2-difenil, 1-picrilhidracilo
∞	Indefinido
$^{\circ}\text{C}$	Grados centígrados
nm	Nanómetros
μl	Microlitros
Abs	Absorbancia
AERL	Actividad estabilizadora de radicales libres
APHA	American Public Health Association
API	American Petroleum Institute
As	Arsénico
ATP	Adenosín trifosfato
B	Boro
Ca	Calcio
Ca^{2+}	Ion calcio
CAX	Transportador de cationes
Cd	Cadmio
Cd^{2+}	Ion cadmio
CdCl_2	Cloruro de cadmio
CH_3Hg^+	Metilmercurio
Chl	Clorofila
Cl^-	Ion cloro
cm	Centímetros
Co	Cobalto
CO_2	Dióxido de carbono
Cr	Cromo

Cu	Cobre
Eh	Potencial de óxido reducción
EP	Empresa pública
EPA	US Environmental Protection Agency
Fe	Hierro
g	Gramos
g/g	Gramo sobre gramo
GSH	Glutation
H⁺	Protón
Hg	Mercurio
HNO₃	Ácido nítrico
<i>in situ</i>	En el sitio
IRT1	Proteína perteneciente a la familia de transportadores de Zn y Fe
K	Potasio
kg	Kilogramos
LCT1	Transportador específico de calcio
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
m²	Metros cuadrados
m³	Metros cúbicos
Mg	Magnesio
mg/l	Miligramo por litro
ml	mililitros
mM	Milimolar
mm	Milímetros
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
MTs	Metalotioneínas
NH₄⁺	Radical amonio
Ni	Níquel
NO_x	Óxidos de nitrógeno

Np	Neptunio
P	Fósforo
Pb	Plomo
Pb₅(PO₄)₃Cl	Piromorfita
PCs	Fitoquelatinas
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
RAOH	Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
Sb	Antimonio
Se	Selenio
Si	Silicio
Sn	Estaño
SO_x	Óxidos de azufre
Tc	Tecnecio
Tn	Tonelada
U	Uranio
UV	Ultravioleta
V	Vanadio
ZIP	Familia de transportadores de Zn y Fe
Zn	Zinc
Zn²⁺	Ion zinc

RESUMEN

En el país, específicamente en el Distrito Amazónico se ha detectado varios campos con concentraciones superiores a los 3 ppm de Cd, lo que excede la normativa establecida por la RAOH. Como una alternativa a este problema se ha establecido la recuperación de estos suelos mediante fitorremediación; para la cual se diseñaron dos experimentos, uno en vivero y un piloto en campo, con el fin de determinar la capacidad fitorremediadora del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) especie nativa del Oriente ecuatoriano. Para el estudio en vivero se utilizaron 4 concentraciones de Cd (0, 20, 40 y 60 ppm), cada una con un total de 30 plantas y se analizó la [Cd] presente en la parte aérea, raíz y suelo a los 60 y 120 días de exposición mediante absorción atómica por llama. También se analizó la concentración de clorofila, carotenoides y ROS, mediante métodos espectrofotométricos con el fin de determinar estrés oxidativo por exposición al metal pesado. Para el piloto en campo se diseñó una plataforma con seis cubetos de 3x2 m, en los cuales se plantaron 5 especies de posibles fitorremediadoras (Camacho, cabezona, maíz, girasol y dalis). El suelo de cada cubeto fue expuesto a 15 ppm de Cd. Se determinó la [Cd] en parte aérea, raíz y suelo a los 90 días de exposición al metal pesado. Los resultados del ensayo en vivero, mostraron una remoción de Cd de hasta el 79,671% y no se registró signo de estrés oxidativo alguno. En el caso del piloto en campo, la especie con mayor capacidad fitorremediadora fue el maíz con una tasa de remoción del 59,879% superando la del camacho que registró un 55,170%. Los resultados muestran a estas dos especies, camacho y maíz, como una posible alternativa para la recuperación de suelos contaminados con Cd en el Distrito Amazónico.

ABSTRACT

In the country, specifically in the Amazon District was identified several fields with concentrations above 3 ppm of Cd, which exceeds the regulations set by RAOH. As an alternative, these soils have been recovered by phytoremediation, for which we have designed two experiments, one in a greenhouse and other in a field pilot, in order to determine the phytoremediation ability of camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) native species of the Ecuadorian amazon. For the study in the greenhouse was used 4 concentrations of Cd (0, 20, 40 and 60 ppm), each with a total of 30 plants and was analyzed the [Cd] present in the aboveground part, root and soil at 60 and 120 days of exposure by the method of atomic flame absorption. Also was analyzed the concentration of chlorophyll, carotenoids and ROS, by spectrophotometric methods in order to determine oxidative stress by exposure to the heavy metal. For the field pilot, was designed a platform with six hollows of 3x2 m, in which were planted 5 species with possible phytoremediation ability (camacho, cabezazona, corn, sunflower and dalis). The floor of each hollow was exposed to 15 ppm of Cd. Was determined [Cd] in aboveground part, root and soil after 90 days of exposure to the heavy metal. The test results in the greenhouse showed a removal rate of Cd to 79.671% and not recorded any sign of oxidative stress. In the case of the field pilot, the species with greater phytoremediation capacity was corn, with a removal rate of 59.879%, exceeding the camacho rate that recorded a 55.170%. The results show this two species, camacho and corn, as a possible alternative to the recovery of soils of the Amazon District contaminate with Cd.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Formulación del problema

El cadmio (Cd) es un elemento no esencial y poco abundante en la corteza terrestre y es tóxico para todos los organismos vivos a bajas concentraciones. Como consecuencia del incremento de la actividad industrial registrada a finales del siglo XX y principios del siglo XXI, la contaminación ambiental por cadmio ha aumentado, y ha llegado a afectar de forma progresiva a diferentes ecosistemas (Pinto *et al.*, 2004).

Por otra parte, en las actividades de explotación y aprovechamiento del petróleo, específicamente en la extracción, se pueden producir derrames en las áreas circundantes del pozo, que contaminan el suelo, la flora y fauna existente en él y el medio ambiente que lo rodea. Esto trae como consecuencia la alteración de las características físicas, químicas y biológicas del suelo. El problema radica en que estos componentes contaminantes del petróleo permanecen en el suelo por largos períodos de tiempo (Okoh y Trejo Hernandez, 2006).

Actualmente se registran varios campos contaminados en el Distrito Amazónico, los cuales presentan una concentración de Cd que sobrepasa los 3 ppm, que según el RAOH (Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador) es un valor que excede los límites permisibles para los suelos de uso agrícola y ecosistemas sensibles y por lo tanto requieren de un tratamiento adecuado.

Los resultados obtenidos al culminar la ejecución del presente proyecto, serán de gran ayuda en la remoción de Cadmio de suelos contaminados con hidrocarburos, presentes en el Distrito Amazónico.

1.2. Justificación e importancia del problema a resolver

En el proceso de explotación del petróleo, específicamente con el inicio de la perforación, se empieza a generar desechos contaminantes, siendo los más importantes los cortes y lodos de perforación. Los cortes de perforación están compuestos de una mezcla heterogénea de rocas, que puede incluir metales pesados, sustancias radioactivas u otros elementos contaminantes (Reyes y Ajamil, 2005).

Existen lodos de perforación solubles en agua que tienen como componente principal la barita y el carbonato de calcio, a los que se añade compuestos inorgánicos como la bentonita y otras arcillas que aumentan su viscosidad. Estos lodos incluyen varios metales pesados tóxicos, sales inorgánicas, detergentes, polímeros orgánicos, inhibidores de la corrosión y biocidas y se los utiliza como lubricantes y refrigerantes para la broca o como herramienta para levantar la roca cortada por la broca, evitar la corrosión, el derrumbe de las paredes del pozo y para controlar que los líquidos, en las diferentes formaciones del subsuelo (aguas de formación y crudo), y el gas fluyan sin control hacia la superficie (Reyes y Ajamil, 2005).

Otro problema grave se produce durante la extracción de petróleo. Este consiste en la presencia de agua salobre o agua de formación, presente en los yacimientos petroleros, que sale a la superficie asociada con el crudo. El contenido de las aguas de formación puede contener: petróleo (500-5000 ppm), sulfatos, bicarbonatos, sulfuro de hidrógeno, cianuro, CO₂ y metales pesados (cadmio, arsénico, cromo, plomo, mercurio, vanadio, zinc) (Wills, 2000).

Todos estos residuos pueden llegar a la superficie del suelo, y así contaminar el mismo. Además pueden migrar hacia aguas subterráneas, llegar a cuerpos de agua dulce y ser absorbidos por las plantas entrando así en la cadena trófica (Wills, 2000). En cuanto se refiere específicamente a la contaminación por cadmio, esta puede causar problemas graves a todos los organismos vivos, resultando altamente tóxico para el ser humano. Una de las posibles fuentes de intoxicación por cadmio en humanos es la ingesta de

plantas contaminadas por dicho metal (Norvell *et al.*, 2000). Por otro lado, la contaminación por Cd en las especies vegetales interfiere en la entrada, transporte y utilización de elementos esenciales como son: Ca, Mg, P, K y el agua, provocando desequilibrios nutricionales e hídricos en la planta (Sandalio *et al.*, 2001). Reduce también la absorción de nitratos y el transporte de los mismos de la raíz al tallo e inhibe la actividad nitrato reductasa en los mismos (Gouia *et al.*, 2000).

Otros problemas en las plantas expuestas a suelos contaminados con cadmio son modificaciones en la apertura estomática, fotosíntesis y transpiración (Sandalio *et al.*, 2001). Sin embargo una de las enfermedades más importantes producidas por la toxicidad por Cd es la clorosis, producida por una deficiencia de hierro, fosfatos o por la reducción del transporte de Mn (Benavides *et al.*, 2005).

Otro efecto adverso del cadmio es que reduce la actividad ATPasa de la membrana plasmática de células vegetales, (Sandalio *et al.*, 2001), además altera la funcionalidad de la membrana plasmática y causa desequilibrios en el metabolismo del cloroplasto, inhibiendo la síntesis de clorofila y reduciendo la actividad de enzimas implicadas en la fijación del CO₂ (Maksymiec *et al.*, 2007).

En el caso de animales y seres humanos, si llegasen a consumir alimentos con altos contenidos de cadmio, este tiende a acumularse en los riñones, el hígado, los órganos reproductores y los huesos (Codina y Pérez, 1993). El ingreso medio diario, para humanos se estima en 0,15 µg proveniente del aire y un µg del agua. Debido a que es un elemento que compite con el Fe, Zn, Mn, Se y Cu por los ligantes del sistema biológico, altera funciones metabólicas (Galván, 2006).

La ingesta de alimentos o agua con niveles de Cd altos produce irritación grave del estómago causando vómitos y diarrea. De igual manera, la exposición prolongada a niveles más bajos de cadmio en el aire, los alimentos o el agua producen acumulación de cadmio en los riñones, insuficiencia renal,

daño del pulmón, fragilidad de los huesos y osteoporosis. Inclusive varios estudios muestran que el cadmio y compuestos que lo contengan, son carcinogénicos en seres humanos (Atsdr, 2008).

Los metales tóxicos en los suelos no pueden ser destruidos sino sólo neutralizados y pequeñas variaciones en las condiciones del medio edáfico pueden liberar los metales anteriormente insolubilizados (Ortiz *et al.*, 2007). Actualmente se dispone de varias tecnologías para recuperar suelos contaminados, algunas de aplicación habitual y otras todavía en fase experimental. Estas se han diseñado con el fin de aislar o destruir las sustancias contaminantes alterando su estructura química mediante procesos generalmente químicos, térmicos y, minoritariamente, biológicos. Su aplicación depende de las características del suelo y del contaminante, de la eficacia esperada con cada tratamiento, de su viabilidad económica y del tiempo estimado para su desarrollo (Reddy *et al.*, 1999).

Entre las principales tecnologías de descontaminación de suelos con metales pesados tenemos a los siguientes:

- **Tratamientos físico-químicos:** extracción, lavado, flushing, electrocinética, adición de enmiendas y barreras permeables activas.
- **Tratamientos biológicos:** biotransformación de metales y fitorrecuperación.
- **Técnicas de confinamiento:** estabilización físico-química.

Sin embargo a pesar de todas estas alternativas, en la actualidad, hay un interés creciente por los métodos de recuperación biológicos ya que prometen tecnologías más sencillas, más baratas y por sobretodo más respetuosas con el medio ambiente que otros tratamientos en los que los contaminantes son simplemente extraídos y transportados a otros lugares. Las tecnologías biológicas involucran el uso de microorganismos y plantas para remover, contener o retener contaminantes ambientales sin causar daño (Cunningham y Lee, 1995). Cabe mencionar que a pesar de las ventajas antes mencionadas, la eficacia de los tratamientos de biorrecuperación es muy

relativa, ya que estas estrategias que funcionan en un lugar determinado no tienen por qué funcionar en otro, y los procesos de biorrecuperación que se llevan a cabo en el laboratorio puede que no tengan el mismo éxito cuando se extrapolan a los estudios de campo (Lovley, 2003).

En cuanto se refiere específicamente a la fitorrecuperación, se la ha considerado como un método emergente que utiliza la capacidad de ciertas especies vegetales para sobrevivir en ambientes contaminados con metales pesados y sustancias orgánicas y a la vez extraer, acumular, inmovilizar o transformar estos contaminantes del suelo. Las plantas utilizadas en la fitorremediación presentan mecanismos constitutivos y adaptados para tolerar o acumular un elevado contenido de metales en su rizósfera y en sus tejidos. El éxito de este tratamiento depende de la selección de las especies vegetales adecuadas para recuperar un suelo determinado, así como de una adecuada selección de enmiendas (materia orgánica, agentes quelantes, cal, etc.) que permitan mejorar las propiedades del suelo y fomenten la supervivencia y el crecimiento de las plantas (Clemente *et al.*, 2005). Así la fitorrecuperación es un procedimiento que no perturba en gran medida el suelo o el paisaje, de bajo coste y fácil aplicación que funciona como una alternativa a otros procesos físicos y químicos más invasivos (Ortiz *et al.*, 2007). Además la fitorrecuperación *in situ* reduce el riesgo de exposición para el personal que limpia y transporta el material contaminado, sin mencionar que el impacto ambiental, que esta produce, es mínimo, porque es un procesos natural y útil para la completa transformación de una amplia variedad de contaminantes sin causar perturbación en sus actividades normales (Skladany y Metting, 1993; Cunningham y Lee, 1995).

Es importante citar también que la fitorremediación es aplicable cuando los contaminantes se encuentran cerca de la superficie y no son lixiviables, o cuando la remoción de los contaminantes no es una situación de emergencia, o bien, si se requiere disminuir el riesgo, ya que puede cubrir extensas áreas (Stomp *et al.*, 1994). Además puede convertirse en un proceso lento, dependiendo de la especie vegetal utilizada, las elevadas concentraciones de

contaminantes pueden ser tóxicas para las plantas y por último puede requerir una buena gestión de la biomasa resultante para impedir que los contaminantes entren en la cadena trófica (Ortiz *et al.*, 2007).

Por lo antes mencionado es de vital importancia el tratamiento de suelos contaminados procedentes de las diferentes actividades de la industria petrolera, específicamente de la extracción de crudo como un requisito para salvaguardar la salud de las personas que pueden tener contacto con este tipo de suelos. Además, debido a sus múltiples ventajas, es posible considerar a la técnica de fitorrecuperación como un método adecuado y viable para el tratamiento de suelos contaminados con cadmio. Es por esto que el objetivo principal del presente proyecto es la determinación de la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho como especie nativa del Distrito amazónico.

1.3. Objetivos

1.3.1. General

Determinar la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch), especie vegetal nativa en el área de influencia de EP PETROECUADOR en el Distrito Amazónico.

1.3.2. Específicos

- Evaluar la respuesta biológica del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch), especie nativa seleccionada, con diferentes concentraciones de cadmio para identificar niveles de toxicidad.
- Identificar el sitio de bioacumulación de cadmio en la especie vegetal nativa, Camacho (*Xanthosoma undipes* Koch), en estudio.
- Estudiar, en ensayo de campo, al Camacho, como especie vegetal con potencial fitorremediador de suelo contaminado con Cd.
- Analizar otras especies vegetales para tratamientos *ex situ* de suelo contaminado con Cd, que presenten potencial fitorremediador.

1.4. Marco referencial

1.4.1. Suelo

El término suelo se refiere al material suelto de la superficie de la tierra. Su formación se da por la interacción de los sistemas atmósfera, hidrósfera y biósfera sobre la superficie de la geósfera, involucrando la meteorización química y mecánica de las rocas y la influencia de ciertos procesos microbiológicos (Huertos y Romero, 2008).

Otra definición, desde el punto de vista edáfico, considera al suelo como un cuerpo natural tridimensional formado por la progresiva alteración física y química de un material original o roca madre a lo largo del tiempo, bajo unas condiciones climáticas y topográficas determinadas y sometido a la actividad de organismos vivos. A lo largo de su evolución o edafogénesis, en el suelo se van diferenciando capas verticales de material generalmente no consolidado llamados horizontes, formados por constituyentes minerales y orgánicos, agua y gases, y caracterizados por propiedades físicas (estructura, textura, porosidad, capacidad de retención de agua, densidad aparente), químicas y físico-químicas (pH, potencial redox, capacidad de intercambio catiónico) que los diferencian entre sí y del material original. El conjunto de horizontes constituye el perfil del suelo y su estudio permite dilucidar los procesos de formación sufridos durante su evolución y llevar a cabo su clasificación dentro de las distintas unidades de suelos (Ortiz *et al.*, 2007).

La importancia del suelo radica en que es un elemento natural dinámico y vivo que constituye la interfaz entre la atmósfera, la litosfera, la biosfera y la hidrosfera, sistemas con los que mantiene un continuo intercambio de materia y energía. Esto lo convierte en una pieza clave del desarrollo de los ciclos biogeoquímicos superficiales en los que actúa como un reactor complejo que sirve de elemento protector de otros medios más sensibles frente a elementos contaminantes. Así, el suelo ejerce su labor protectora a través de su poder de amortiguación o capacidad natural de depuración de la contaminación (Ortiz *et al.*, 2007).

Esta atenuación de los elementos nocivos contaminantes se realiza a través de reacciones de complejación, reacciones de adsorción y desorción, reacciones de precipitación y disolución, reacciones de oxidorreducción, reacciones ácido-base y reacciones derivadas de procesos metabólicos, las mismas que están estrechamente controladas por propiedades del suelo como su textura, estructura, porosidad, capacidad de intercambio catiónico, pH, Eh y la actividad microbológica. Sin embargo es necesario considerar que el poder de amortiguación de un suelo no es ilimitado y cuando se rebasa, el suelo deja de ser eficaz como sumidero de la contaminación, llegando incluso a invertirse el proceso y a convertirse en una fuente de contaminación para los organismos del suelo y para el medio circundante (Ortiz *et al.*, 2007).

Así, la presencia de concentraciones nocivas de algunos elementos y compuestos químicos se denomina contaminación. El contaminante está siempre en concentraciones mayores a las habituales y en general tiene un efecto adverso sobre algunos organismos vivos. Por su origen puede ser geogénico o antropogénico (Huertos y Romero, 2008).

La contaminación del suelo consiste en una degradación química que provoca la pérdida parcial o total de la productividad del suelo como consecuencia de la acumulación de sustancias tóxicas en unas concentraciones que superan el poder de amortiguación natural del suelo y que modifican negativamente sus propiedades. Como se mencionó con anterioridad, esta acumulación se realiza generalmente como consecuencia de actividades humanas exógenas, bien como resultado de actuaciones directas, como actividades agrícolas, forestales, ganaderas, agroquímicas y riego, o por acciones indirectas, como son las actividades industriales, eliminación de residuos, transporte, etc.; aunque también se puede producir de forma natural o endógena cuando los procesos de edafización liberan elementos químicos contenidos en las rocas y los concentran en el suelo alcanzando niveles tóxicos. Un claro ejemplo de esto último lo tenemos en suelos muy evolucionados formados sobre rocas serpentinizadas con altos contenidos en

metales pesados como el Cr, Ni, Cu y Mn, Cd entre otros, que se concentran en los suelos a medida que la intensa edafogénesis produce el lavado de otros constituyentes esenciales como el Ca, Mg e incluso el Si. Conforme se desarrolla esta concentración residual metálica, estos elementos que inicialmente eran constituyentes no asimilables de los minerales primarios pasan a formas más activas, solubles y biodisponibles que influyen negativamente sobre la actividad biológica (Macías y Ortiz, 1993).

Estos procesos de degradación se pueden clasificar en función de su naturaleza y del tipo de consecuencias negativas que provocan en las propiedades del suelo: biológicos, como la disminución del contenido en materia orgánica incorporada en el suelo; físicos, como el deterioro de la estructura del suelo por compactación y aumento de la densidad aparente, disminución de la permeabilidad y de la capacidad de retención de agua o pérdida de suelo por erosión; y químicos, como la pérdida de elementos nutrientes, acidificación, salinización, sodificación y aumento de la toxicidad. Estos últimos son los que se engloban dentro del término contaminación (Fao Pnuma, 1983).

Para considerar a un suelo como contaminado, no basta sólo con detectar la presencia de la o las sustancias contaminantes sino que su concentración debe superar la máxima cantidad permitida en el suelo sin que se produzcan efectos nocivos que no puedan ser contrarrestados por el poder de amortiguación del suelo (carga crítica). Así se deduce que distintos suelos van a reaccionar de forma diferente ante la presencia de un mismo contaminante o de una misma cantidad de contaminante. Esta reacción estará condicionada por la vulnerabilidad específica de cada suelo, que representa el grado de sensibilidad del suelo frente a la agresión de los agentes contaminantes y que está muy relacionada con el poder de amortiguación del suelo, de forma que cuanto menor sea esta capacidad de amortiguación del impacto del contaminante mayor será su vulnerabilidad. Además, para determinar el grado de contaminación de un suelo es necesario considerar la biodisponibilidad del contaminante o su posible asimilación por los organismos

del suelo, determinada por la competencia entre el sistema radicular de la planta, la solución del suelo y la fase sólida del suelo; la movilidad, que regulará su distribución y transporte en el suelo o a otros medios; y la persistencia, que controlará la duración de su efecto pernicioso en el suelo (Sposito, 1989).

Gracias a estos conceptos es posible evaluar los riesgos potenciales de determinadas actividades contaminantes y elegir y planificar actuaciones que permitan la recuperación de los suelos de acuerdo a las características que éste presente.

1.4.2. Petróleo

El petróleo y sus derivados son mezclas de hidrocarburos en estado gaseoso, líquido y sólido. Los componentes de las reservas naturales de crudo se llaman hidrocarburos de petróleo. Estos depósitos de roca sedimentarios son nuevas formaciones resultantes de residuos orgánicos de organismos antiguos y desarrollados en períodos geológicos bajo calor, presión y mínimas condiciones anaeróbicas. Según el contenido original de los diferentes elementos, todos los tipos de crudo contienen pequeñas cantidades de azufre, nitrógeno, oxígeno y trazas de metales, particularmente el vanadio, níquel, hierro y cobre (Acción Ecológica, 2000).

Por consiguiente, cada crudo de petróleo tiene su composición química individual que depende de su origen y localización. El crudo de petróleo puede clasificarse en crudos parafínicos, asfálticos y mixtos, los mismos que son la fuente mineral de una gran cantidad de productos a refinarse tales como: gas de petróleo, gasolina, naftas, querosén, grasas, aceites lubricantes, coke, ceras y asfalto (Acción Ecológica, 2000).

1.4.3. Impactos de la industria hidrocarburífera en el suelo

1.4.3.1. ***Principales fuentes de contaminación***

Una investigación realizada en 1981 por el instituto americano de petróleo (API) identificó entre las principales fuentes de contaminación:

- **Lodos de perforación de tipo inversa y recortes**

Contienen un tipo de aceite muy similar a diesel en concentraciones de aproximadamente 10% y son sumamente arcillosos. Este material se deposita en presas, las cuales anteriormente eran construidas con materiales permeables y filtraban los hidrocarburos al medio ambiente.

- **Suelo contaminado por derrames de tuberías corroídas**

Existen campos petroleros ubicados en zonas pantanosas, manglares u otras selvas inúndales. Los ductos de estos se instalaron conectando los pozos individuales a baterías de separación y desde ahí hasta las petroquímicas y refinería. En el interior de estos y gracias al pasar del tiempo, se genera corrosión anaerobia, debido principalmente a bacterias reductoras de sulfato dando como resultado ductos corroídos y derramamientos. Los tipos de suelos afectados son de zonas bajas con altos contenidos de materia orgánica y arcilla y los menos afectados, son por lo general los más aptos para la agricultura por poseer texturas menos finas y alta fertilidad. Los sitios que se encuentren en la planicie costera, son los que más preocupan en caso de contaminación por el impacto que puede tener sobre los acuíferos, debido a su alta permeabilidad.

- **Tiraderos de desechos aceitosos semisólidos**

Los pozos que nunca produjeron petróleo o pozos antiguos que no producen y están tapados se los utiliza como depósitos de desechos aceitosos. Puesto que nunca fueron diseñados para dicho fin y son construidos de materiales impermeables, muchas veces se termina el espacio disponible y se sigue depositando el relleno sobre la plataforma lo que genera desbordamientos e infiltraciones de hidrocarburos al medio ambiente cercano.

- **Sitios contaminados por descargas petroquímicas y refinerías**

Debido a que, en muchas ocasiones, las petroquímicas y refinerías, tienen sistemas antiguos de tratamiento de aguas residuales, dan lugar a aguas de descarga que generalmente contienen sales de los yacimientos de petróleo que al arrojarlas al medio ambiente afectan a los pantanos y cuerpos de agua (Benavides *et al.*, 2004).

1.4.3.2. Consecuencias ambientales del derramamiento de crudo

En el caso del suelo, los hidrocarburos impiden el intercambio gaseoso con la atmósfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos, como evaporación y penetración, que dependiendo del tipo de hidrocarburo, temperatura, humedad, textura del suelo y cantidad vertida pueden ser procesos más o menos lentos lo que ocasiona una mayor toxicidad. Otra consecuencia es que eleva de forma moderada, alta o extrema la salinidad, lo que dificulta el tratamiento de los suelos, debido a que altos gradientes de salinidad pueden destruir la estructura terciaria de las proteínas, desnaturalizar enzimas y deshidratar células, lo cual es letal para muchos microorganismos usados para la recuperación de suelos contaminados (Restrepo, 2002; Siva *et al.*, 2004).

En el caso de ocurrir un derrame en agua, los hidrocarburos vertidos flotan por diferencia de densidades impidiendo la entrada de luz y el intercambio gaseoso, dando comienzo así, a la solubilización de compuestos hidrosolubles y a la afección de diferentes poblaciones: la primera población afectada por un derrame es el plancton, en segundo lugar, los macroinvertebrados, y la última población afectada son los Bentos o población de macroinvertebrados que viven en los fondos de los ríos y ciénagas (Fatima *et al.*, 2003).

Diferentes estudios han determinado el efecto de la contaminación con hidrocarburos en la germinación y crecimiento vegetativo de varias especies de

pastos sometidas a diferentes concentraciones de hidrocarburo, concluyendo que hay un marcado retraso en el crecimiento de todas las plantas evaluadas y, por ejemplo, en ecosistemas forestales y plantas madereras, existe un efecto de necrosis foliar. Dicha contaminación está ocasionando el deterioro progresivo de la calidad del medio ambiente y genera una amenaza real a la salud pública, así como la extinción de gran cantidad de especies vegetales y animales (Schmidt, 2000).

1.4.4. Metales pesados

El término metal pesado carece de base científica y definición química. Sin embargo, se puede aplicar al grupo de elementos con una gravedad específica mayor a 5. Todos están incluidos en la lista de contaminantes prioritarios de la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (EPA) (SenGupta, 2002).

Algunos de ellos son esenciales para los organismos en pequeñas cantidades, como el Fe, Mn, Zn, B, Co, As, V, Cu, Ni o Mo, y se vuelven nocivos cuando se presentan en concentraciones elevadas, mientras que otros no desempeñan ninguna función biológica y resultan altamente tóxicos, como el Cd, Hg o el Pb. Sus efectos tóxicos son directamente proporcionales a su concentración (SenGupta, 2002). Estos elementos tienen su origen en el substrato litológico, apareciendo bien como elementos nativos o incorporados normalmente en las estructuras de sulfuros, silicatos, carbonatos, óxidos e hidróxidos. Los aportes dominantes se producen por deposición atmosférica y afectan de forma significativa a los primeros centímetros de suelo. Son fuentes importantes de metales en suelos las cenizas y escorias de los procesos de combustión de carbón fósil o derivados del petróleo, el aporte directo procedente de actividades agrícolas (adición de fertilizantes, pesticidas, lodos de depuradoras, compost, etc.) y su acumulación a partir de residuos industriales, urbanos y mineros (metalurgia, fabricación de pinturas, barnices, disolventes, baterías, textiles, curtidos, etc.) (Figura 1.1). Las concentraciones permisibles de estos metales en agua para consumo y en descargas

municipales e industriales son reguladas a través de la legislación debido a sus efectos tóxicos a corto plazo (Mas y Azcúe, 1993).

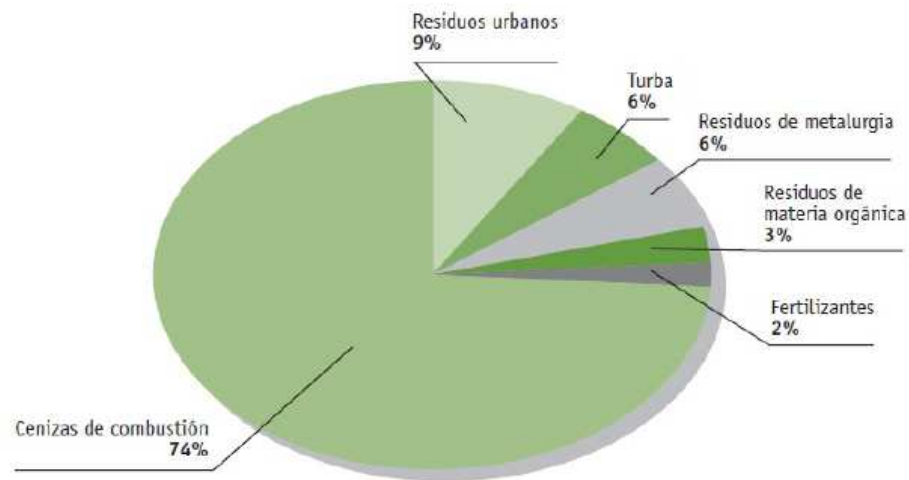


Figura 1.1 Principales fuentes de procedencia de metales pesados en suelos (Mas y Azcúe, 1993).

1.4.4.1. Movilización de metales pesados en el suelo

Al hablar de contaminación por metales hay que tener en cuenta que más importante que el contenido total de un elemento en el suelo es la forma o especie química bajo la que se encuentra, es decir, su especiación (Mulligan *et al.*, 2001). Así, la forma resultante de dicha especiación va a influir decisivamente en su distribución en el suelo, condicionando su solubilidad, su movilidad en el suelo y las aguas superficiales y subterráneas, su biodisponibilidad y toxicidad y, por tanto, su comportamiento como contaminante potencial (Ortiz *et al.*, 2007).

Una vez en el suelo, los metales pesados pueden quedar retenidos en el mismo pero también pueden ser movilizados en la solución del suelo mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos (Pagnanelli *et al.*, 2004). Los metales pesados adicionados a los suelos se redistribuyen y reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida (Han *et al.*, 2003). Dicha redistribución se caracteriza por una rápida retención inicial y posteriores

reacciones lentas, dependiendo de las especies del metal, propiedades del suelo, nivel de introducción y tiempo (Han *et al.*, 2003).

La movilidad relativa de los elementos traza en suelos es de suma importancia en cuanto a su disponibilidad y su potencial para lixiviarse de los perfiles del suelo al agua subterránea y difiere de si su origen es natural o antrópico (Burt *et al.*, 2003) y, dentro de este último, al tipo de fuente antrópica (Davies, 1995; Burt *et al.*, 2003).

La presencia de metales pesados en ambientes acuáticos, terrestres y atmosféricos es preocupante. En fase acuosa, los metales pesados pueden existir como cationes, aniones, especies no ionizadas y macromoléculas complejas y en fase sólida como precipitados insolubles o como solutos unidos en la superficie de los sitios de sorción de micropartículas. La movilidad y destino de los metales pesados en la fase sólida están influenciados por la composición química de la fase líquida de contacto (SenGupta, 2002).

Entre los factores que influyen en la movilización de metales pesados en el suelo están:

- **Características del suelo:** pH, potencial redox, composición iónica de la solución del suelo, capacidad de cambio, presencia de carbonatos, materia orgánica, textura.
- **Naturaleza de la contaminación:** origen de los metales y forma de deposición.
- **Condiciones medioambientales:** acidificación, cambios en las condiciones redox, variación de temperatura y humedad (Sauquillo *et al.*, 2003).

Así por ejemplo, el transporte de metales se minimiza a valores de pH superiores a 6 (Sims *et al.*, 1990). Las formas reducidas de Cu, Zn, Ni, Cd, As, U, Np y Tc forman precipitados bastante insolubles de sulfuros, hidróxidos o carbonatos, perdiendo así su movilidad. A pH más bajo disminuye las

concentraciones de $(OH)^-$ y $(CO_3)^{2-}$ haciendo que los cationes metálicos sean más solubles y móviles. En general la formación de complejos acuosos compite con la precipitación e intensifica la solubilidad y movilidad de los metales (Rittman y McCarty, 2001). Los mecanismos por los cuales los elementos traza de los suelos contaminados pueden ser movilizados son (Alloway, 1995):

- **Acidificación:** es el resultado de la oxidación de sulfuros minerales, precipitados y de fertilizantes de NH^4 , debido a la fijación biológica de nitrógeno, por precipitación atmosférica ácida (SO_x y NO_x) sobre los suelos, por descomposición de materia orgánica, por agotamiento de bases por lixiviación y por vertidos de contaminantes ácidos.
- **Cambios en las condiciones redox:** son condiciones oxidantes que pueden causar la oxidación y disolución de sulfuros insolubles. Si se producen a la inversa, las condiciones reductoras pueden conducir a la disolución de óxidos y a la liberación de sus elementos traza coprecipitados en la solución. Por otro lado, fortísimas condiciones reductoras también darán lugar a la precipitación de sulfuros insolubles de elementos traza.
- **Complejación de especies metálicas con ligandos orgánicos:** los ligandos son constituyentes químicos que se combinan con los metales formando un complejo químico (Novotny, 1995).
- **Cambios en la composición iónica de la solución del suelo:** pueden tener efecto en la adsorción de elementos traza y su incorporación en complejos inorgánicos solubles e insolubles. Hay cuatro tipos de efectos: competición por los sitios de adsorción (por ejemplo, Ca^{2+} y Zn^{2+} inhibiendo la adsorción de Cd^{2+}); formación de complejos solubles (con aniones como Cl^- y $(SO_4)^{2-}$); formación de compuestos insolubles como $Pb_5(PO_4)_3Cl$ y efectos de fuerza iónica, de manera que incrementos en la fuerza iónica de la solución del suelo

como resultado de la contaminación, aplicación de fertilizantes o salinidad puede conducir a una adsorción reducida y a la desorción de metales de lugares de la superficie.

- **Metilación:** los metales como As, Hg, Sb, Se y Sn pueden ser transformados en metilpecies, como CH_3Hg^+ . La metilación puede afectar al movimiento y pérdida de ciertos elementos traza y también su toxicidad para organismos vivos; así las especies metil-As son menos tóxicas que las formas inorgánicas, mientras que las especies metil-Hg son más tóxicas. Las metilpecies pueden volatilizarse y perderse a la atmósfera y pueden también acumularse en la materia orgánica del suelo o en tejidos ricos en lípidos de raíces de plantas y fauna del suelo.

Los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir cuatro diferentes vías:

- Ser retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa del suelo, ocupando sitios de intercambio o específicamente adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos del suelo, asociados con la materia orgánica del suelo y/o precipitados como sólidos puros o mixtos
- Ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas
- Pasar a la atmósfera por volatilización
- Movilizarse a las aguas superficiales o subterráneas (García y Dorronsoro, 2005).

La toxicidad de los metales depende no sólo de su concentración, sino también de su movilidad y reactividad con otros componentes del ecosistema (Abollino *et al.*, 2002). Un factor importante que gobierna la movilidad, toxicidad y biodisponibilidad de los metales pesados es su especiación, que se puede definir como el estado, fase/s o forma/s química/s en que se encuentra un determinado elemento en el suelo (Buatier *et al.*, 2001).

1.4.5. Plantas hiperacumuladoras de metales pesados

Todas las plantas cuentan con un potencial para absorber una amplia variedad de metales del suelo pero la mayor parte de ellas solo absorben los que son esenciales para su supervivencia y desarrollo. Existe una notable excepción de esta regla de un pequeño grupo de plantas que pueden tolerar, absorber y translocar altos niveles de ciertos metales, estas plantas reciben el nombre de hiperacumuladoras (Chen *et al.*, 2001).

Si una planta contiene más de 0.1% de Ni, Co, Cu, Cr y Pb o 1% del Zn en sus hojas sobre una base del peso seco, ésta puede ser llamada “hiperacumuladora”, independientemente de la concentración del metal en el suelo (Robinson *et al.*, 2003).

1.4.6. Cadmio

Este elemento es considerado uno de los metales con mayor potencial contaminante para los suelos, debido a su elevada movilidad y asimilabilidad para las plantas (Alloway y Jackson, 1991). Químicamente, el cadmio se puede encontrar disuelto en el agua contenida en el suelo, adsorbido en superficies orgánicas e inorgánicas, formando parte de minerales, precipitado con otros compuestos del suelo o incorporado a estructuras biológicas.

1.4.6.1. Ingreso, transporte y acumulación de cadmio en plantas

Se asume que no existen mecanismos de entrada específicos para el cadmio debido a que se trata de un metal no esencial. Entre las proteínas responsables de la entrada de cadmio a la célula cabe destacar el transportador específico de calcio LCT1 (Clemens *et al.*, 1998), y la proteína IRT1, perteneciente a la familia de transportadores de Zn y Fe (ZIP) (Guerinot, 2000). Otra familia de transportadores implicados es la Nramp, localizada en la membrana de la vacuola, por lo que se asume que tiene una función en la movilización del metal y no en el ingreso del mismo a la raíz (Thomine *et al.*, 2000).

Dentro de la célula, el cadmio puede coordinarse con ligandos de S como glutatión (GSH) o fitoquelatinas (PCs) y ácidos orgánicos como el citrato (Clemens, 2006; Domínguez Solís *et al.*, 2004). También pueden ser responsables de la quelación del cadmio pequeñas proteínas ricas en cisteína denominadas metalotioneínas (MTs). De esta forma, los complejos Cd-ligando pueden ser transportados al interior de la vacuola o a otras células (Shah y Nongkynrih, 2007). En la planta, el cadmio se encuentra secuestrado en la vacuola de las células, se acumula preferentemente en la raíz y solo una pequeña parte es transportada a la parte aérea de la planta concentrándose en orden decreciente en tallos, hojas, frutos y semillas (Chan y Hale, 2004).

En células de levadura se ha demostrado que el cadmio ingresa en la vacuola unido a fitoquelatinas (PCs) a través de un transportador de tipo ABC (Ortiz *et al.*, 1995). Otros posibles mecanismos de entrada de cadmio en la vacuola pueden ser: mediante un cotransportador de $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^{+}$ ubicado en la membrana de la misma (Salt y Wagner, 1993) o gracias a transportadores de cationes CAX, implicados en el transporte de calcio a la vacuola (Park *et al.*, 2005). Una vez en la raíz, el cadmio forma complejos y pasa al xilema a través del apoplasto y/o del simplasto (Figura 1.2) (Clemens *et al.*, 2002).

1.4.6.2. Estrategias de tolerancia al cadmio

La tolerancia a metales pesados, viene determinada por la reducción del transporte del mismo al interior de la célula y/o una mayor capacidad para secuestrar estos metales.

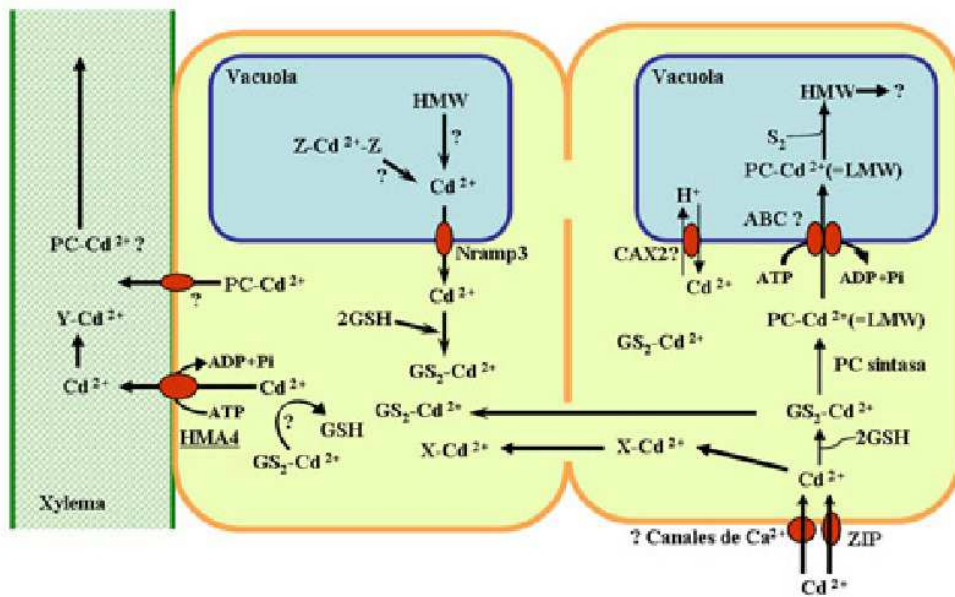


Figura 1.2 Representación esquemática de los mecanismos de ingreso, secuestro y translocación del Cd en raíces (Clemens, 2006).

La raíz constituye una de las principales barreras de defensa ya que logra inmovilizar el Cd gracias a las pectinas de la pared celular. Según Benavides *et al.* (2005), los carbohidratos extracelulares (mucílago y calosa) de la raíz también pueden intervenir en la inmovilización del metal.

Otro mecanismo de inmovilización del metal y defensa celular es la acumulación de cadmio en los tricomas de la superficie foliar (Salt *et al.*, 1995). Así también la reducción del transporte o aumento de la extrusión del Cd por transportadores de cationes de la membrana plasmática es también otra forma de tolerancia al cadmio (Thomine *et al.*, 2000). Ya dentro de la célula, el Cd puede ser secuestrado por ácidos orgánicos, aminoácidos, fitoquelatinas o metalotioneínas, y posteriormente ser compartimentalizados en la vacuola para prevenir su toxicidad. Las fitoquelatinas constituyen uno de los principales mecanismos de defensa frente a metales pesados. La presencia de metales pesados induce la síntesis de fitoquelatinas a partir del glutatión (Clemens, 2006). Así las plantas que sobreexpresan la enzima fitoquelatina sintasa muestran una mayor tolerancia frente al Cd (Pomponi *et al.*, 2006). Según Hamer (1986), otras posibles moléculas responsables de la acumulación del

cadmio son las metalotioneínas (MTs) que son pequeñas proteínas ricas en cisteína, que si bien en las plantas no son las principales responsables de la detoxificación del cadmio, en animales sí.

1.4.7. Fitorremediación

Fitorremediación (fito = planta y remediación = recuperar el medio ambiente). La fitorremediación es el uso de plantas para limpiar ambientes contaminados. Aunque se encuentra en desarrollo, constituye una estrategia muy interesante, debido a la capacidad que tienen algunas especies vegetales de absorber, acumular y/o tolerar altas concentraciones de contaminantes como metales pesados, compuestos orgánicos y radioactivos, etc (Steven, 1997).

En función de su comportamiento ante la presencia de metales en el ambiente las plantas se han clasificado en tres tipos:

- a) Excluyentes: restringen la entrada o la translocación de metales tóxicos. Esto les permite vivir en ambientes con elevadas concentraciones de metales.
- b) Indicadoras: reflejan el incremento de metal producido en el entorno.
- c) Acumuladoras: incrementan activamente metales en sus tejidos (Olayinka, 2008).

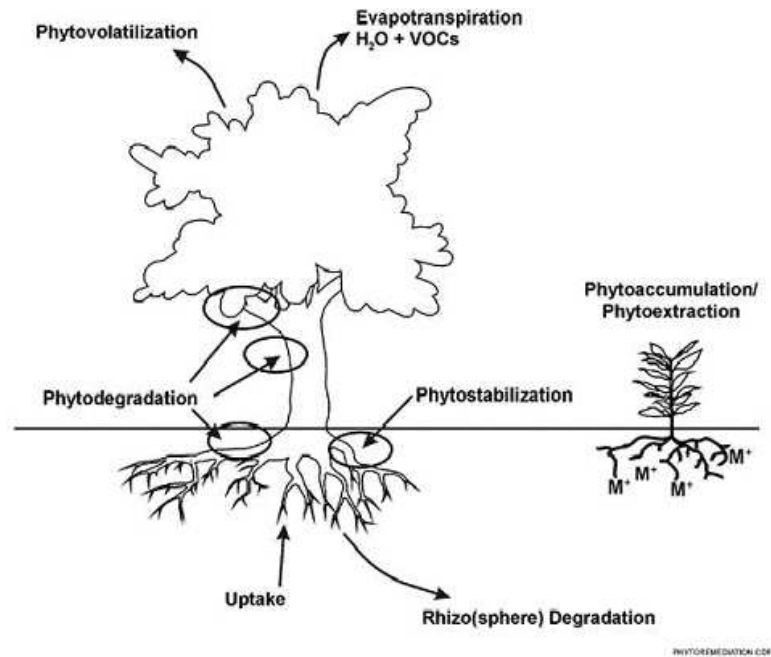


Figura 1.3 Tipos de fitorremediación (Usepa, 1996).

1.4.7.1. Tipos de fitorremediación

La Figura 1.3 muestra los tipos de fitorremediación y las partes de la planta involucradas en los mismos:

- **Fitoestabilización**

Es un mecanismo que utiliza la planta para desarrollar un sistema denso de raíces que le permite reducir la biodisponibilidad para la entrada en la cadena trófica y la movilidad de los contaminantes, inmovilizándolos y evitando así el transporte a capas subterráneas de suelo o a la atmósfera (Anderson *et al.*, 1997).

Esta técnica se puede utilizar para restablecer una cubierta vegetativa en los sitios donde hay ausencia de vegetación natural debido a las concentraciones altas de metales en los suelos, y prevenir la migración de estos a otros estratos (Anderson *et al.*, 1997).

- **Fitodegradación**

Este proceso consiste en la transformación de los contaminantes orgánicos en moléculas más simples. En determinadas ocasiones, los productos de la degradación le sirven a la planta para acelerar su crecimiento y en otros casos los contaminantes son biotransformados. Las plantas producen enzimas, tales como deshalogenasa y oxigenasa, que ayudan a catalizar la degradación (Anderson *et al.*, 1997).

- **Fitoestimulación o rizodegradación**

Las plantas generan los exudados radiculares que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos capaces de degradar compuestos orgánicos xenobióticos. Es un proceso mucho más lento que la fitodegradación. Los microorganismos (levaduras, hongos o bacterias) consumen y digieren sustancias orgánicas para su nutrición y energía. Algunas de estas sustancias pueden ser peligrosas para los seres humanos. La intervención de los microorganismos transforma estas sustancias en productos inofensivos (Anderson *et al.*, 1997).

- **Fitoextracción o fitoacumulación**

Consiste en la absorción de contaminantes por las raíces y el desplazamiento de estos a la parte aérea de la planta para su posterior acumulación en raíces, tallos o follaje. Este mecanismo ha sido ampliamente estudiado en plantas que acumulan metales (Piechalak *et al.*, 2008).

- **Fitovolatilización**

Se produce a medida que las plantas en crecimiento absorben agua junto con los contaminantes orgánicos solubles. El contaminante ya transformado en compuestos menos tóxicos, es eliminado por la planta a la atmósfera (Anderson *et al.*, 1997).

- **Rizofiltración**

Se basa en la utilización de plantas crecidas en cultivos hidropónicos. Es la adsorción o la precipitación de los contaminantes sobre las raíces o la

absorción de los contaminantes por la planta a través de las raíces que están en la solución que rodea la zona de la raíz. Se prefieren raíces de plantas terrestres con alta tasa de crecimiento y área superficial para absorber, concentrar y precipitar contaminantes (Anderson *et al.*, 1997).

1.4.7.2. Diferentes acciones de la fitorremediación

Según Anderson *et al.* (1997), dependiendo de la planta y el agente contaminante, la fitorremediación puede producirse por:

- Acumulación del contaminante en las partes aéreas de la planta como sucede con los metales pesados.
- Absorción, precipitación y concentración del contaminante en raíces (Ej. metales pesados, isótopos radioactivos).
- Reducción de la movilidad del contaminante para impedir la contaminación de aguas subterráneas o del aire (por Ej. lagunas de desecho de yacimientos mineros).
- Desarrollo de bacterias y hongos que crecen en las raíces y degradan a los contaminantes (por Ej. hidrocarburos del petróleo).
- Captación y modificación del contaminante para luego liberarlo a la atmósfera con la transpiración (por Ej. mercurio, selenio y metales clorados).
- Captación y degradación del contaminante para originar compuestos menos tóxicos (por Ej. pesticidas, herbicidas, etc.).

1.4.7.3. Especies fitorremediadoras

Son aproximadamente 400 especies de plantas las que cuentan con capacidades para hiperacumular selectivamente alguna sustancia. En la mayoría de los casos, no se trata de especies raras, sino de cultivos bien conocidos por todos. Otras plantas comunes con las que se ha ensayado con éxito son las especies fitorremediadoras: alfalfa, mostaza, tomate, calabaza, girasol, sauce y bambú. Incluso existen especies vegetales capaces de eliminar la alta salinidad del suelo, gracias a su capacidad para acumular el cloruro de sodio. Otros géneros, por el contrario, menos conocidos, podrían llegar a

hacerse famosos en los próximos años gracias a sus excelentes propiedades como hiperacumuladores, es el caso de una pequeña planta de la extensa familia de las Brassicaceae (Lasat, 2002).

1.4.8. El estrés en vegetales

1.4.8.1. Significado del estrés en el marco de la fisiología vegetal

La definición biofísica de estrés tiene un significado equivalente al de presión. Por lo tanto, el término estrés en el marco de la fisiología vegetal refleja la magnitud de presión ambiental que obliga al cambio en la fisiología de una planta (Nilsen y Orcutt, 1996).

A menudo es dificultoso distinguir entre aquellas respuestas que repercuten negativamente en la planta y aquellas que poseen un efecto benéfico. Nilsen y Orcutt (1996) señalan que algunos factores pueden tener ambos efectos simultáneamente. Otros autores definen al estrés como cualquier factor ambiental biótico o abiótico que reduce la tasa de algún proceso fisiológico (por ejemplo, crecimiento o fotosíntesis) por debajo de la tasa máxima respecto de la que podría alcanzar (Lambers *et al.*, 1998).

1.4.8.2. Los tipos de estrés

Existen variadas clasificaciones de los factores de estrés. En general, estos pueden ser clasificados en físicos, químicos y bióticos, siendo los dos primeros agrupados bajo el término de 'estreses abióticos'. Entre los factores físicos se pueden mencionar el estrés por déficit o exceso de agua, altas-bajas temperaturas y radiación UV. Entre los factores químicos son ampliamente estudiados la contaminación atmosférica, metales pesados, toxinas, salinidad etc. Finalmente, entre los factores bióticos pueden mencionarse la competencia, la herbivoría, la alelopatía y patógenos en general (Tambussi, 2004).

1.4.8.3. Relevancia del estudio del estrés en plantas

El conocimiento de los factores de estrés en los vegetales puede resultar crucial para la elaboración de modelos mecanísticos de naturaleza predictiva (por ejemplo, el estudio de los posibles efectos del cambio climático). Desde una perspectiva ecofisiológica, el análisis de la interacción de las plantas con los factores ambientales es fundamental para comprender la distribución de las especies en los diferentes ecosistemas. Así también el rendimiento de los cultivos está fuertemente limitado por el impacto de estreses ambientales (Nilsen y Orcutt, 1996).

Es crucial también para el estudio de las implicaciones a la hora de optimizar las prácticas agronómicas, para realizar una mejora de los cultivos de tipo analítica y para encontrar posibles 'dianas' susceptibles de ser modificadas genéticamente (Ali Dib *et al.*, 1990).

1.4.9. Descripción de las especies vegetales utilizadas en el proyecto

1.4.9.1. Camacho

Características botánicas de la familia Araceae

Porte: hierbas de pequeñas a muy grandes; con rizomas reptantes, tuberosos, o bien sin sistema radicular rizomatoso; terrestres, epífitas en forma de lianas trepadoras con raíces aéreas (anclándose sobre el hospedante o el suelo) o acuáticas flotantes. Plantas con látex (Freire Fierro, 2004).

Hojas: alternas, espiraladas o dísticas, simples o compuestas, basales o nacidas de los tallos aéreos, limbo expandido con nervios paralelos, pinnados o palmados, sostenidas por un pecíolo cuya base es una vaina membranosa (Freire Fierro, 2004).

Flores: dispuestas en la inflorescencia característica de la familia Espádice, que consiste en una gran espata (bráctea), a menudo conspicua y petaloidea, sosteniendo y, a veces, envolviendo una espiga formada por

numerosas flores. La progresión evolutiva con respecto a la relación espata-espádice, consiste en el acercamiento de la bráctea hasta soldarse al eje de la inflorescencia (se admite que la espata más primitiva es foliácea y libre y la más evolucionada erecta y totalmente soldada al espádice). Flores de pequeño tamaño, inconspicuas, perfectas o imperfectas; en el último caso pueden hallarse en el mismo espádice con las estaminadas generalmente en la parte superior y las pistiladas en la inferior o en pies distintos (Heywood, 1985). Las inflorescencias pueden producir olores agradables para atraer abejas o desagradables para atraer moscas y escarabajos; y en algunas ocasiones, con el objeto de difundir con más fuerza su aroma, aumentan la temperatura durante la época de polinización (Freire Fierro, 2004).

Perigonio: no vistoso o pueden ser aclamídeas. Se pueden hallar flores perfectas perigonadas, perfectas desnudas, imperfectas desnudas y estériles con estaminodios (Heywood, 1985).

Androceo: estambres 1-4 ó 6-8; opuestos a los tépalos cuando están presentes, libres o algunas veces connados parcialmente, o en una sola pieza formando un sinandro. Cuando se presentan libres pueden ser 4 por flor, del largo de los tépalos, con filamentos laminares cortos y anchos y anteras yuxtapuestas (Heywood, 1985).

Gineceo: 2-15 carpelos unidos, ovario plurilocular, placentación axilar, o algunas veces ovario unilocular con placentación parietal, estilo terminal y corto, o estigmas sésiles; ovario súpero o hundido en el espádice, óvulos 1-1 en cada lóculo (Heywood, 1985).

Fruto: generalmente baya, rara vez seco o coriáceo y con dehiscencia irregular, o el espádice entero madurando como fruto múltiple, con 1 a numerosas semillas con endosperma (Freire Fierro, 2004).

Semillas: escasas o numerosas de embrión recto o curvo, con endosperma presente o no, a menudo dispersadas por el viento (Freire Fierro, 2004).

Distribución y Hábitat de la familia Araceae

Es una familia pantropical, con unas pocas especies en zonas templadas, con preferencia de hábitats húmedos hasta acuáticos. También se las puede encontrar en ambientes pobres en sustratos, como grietas de rocas y troncos de árboles. Así mismo, las Aráceas representan una de las principales familias de epífitas. La figura muestra la distribución geográfica de la familia Araceae (Freire Fierro, 2004).

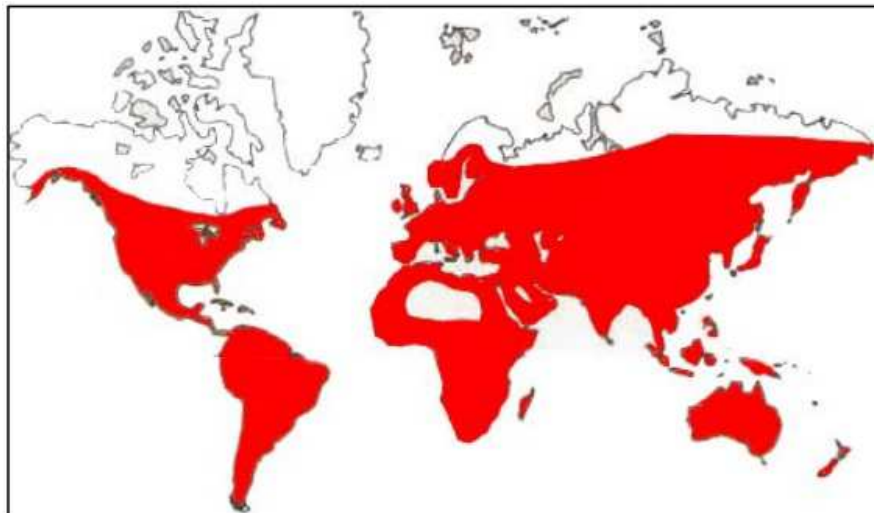


Figura 1.4 Distribución geográfica de la familia Araceae (Facena Unne, 2007).

Importancia de la familia Araceae

Plantas comestibles, sobre todo los géneros *Colocasia*, *Xanthosoma* y *Alocasia*, cuyos tubérculos amiláceos se consumen como alimento de subsistencia, e inclusive algunos cultivares de *Colocasia* han alcanzado en algunos países escala comercial. Los cormos contienen cristales de oxalato cálcico que se destruyen por medio de la cocción o son asados (Heywood, 1985). Los granos de almidón son pequeños y fácilmente digeribles, por lo que son alimento adecuado para niños y personas enfermas (Hill, 1965). El tanier (*Xanthosoma sagittifolium*) oriundo de Sudamérica, produce grandes cormos

con granos de almidón bastos y son los tubérculos los que se consumen principalmente por proveer gran cantidad de vitaminas y minerales (León, 1987). A algunas especies como *Monstera deliciosa* se las cultiva como ornamentales y por sus frutos alargados de sabor parecido a la piña americana cuando están completamente maduros. Especies de *Philodendron* tienen múltiples usos en comunidades indígenas y lugareños como la confección de herramientas e instrumentos de cultivo, ya que de la corteza de las raíces aéreas de *Philodendron bipinnatifidum*, se obtienen bandas de gran longitud y poco centímetros de ancho, utilizadas como elemento de sujeción y refuerzo. A escala industrial, esta corteza es utilizada con fines textiles y en la construcción de cuerdas, cordeles y cables (Crisci y Gancedo, 1971). Las hojas de esta especie son frecuentemente usadas como insecticidas; por ejemplo para combatir piques (*Tunga penetrans*), pulgas (varias especies) y otros ectoparásitos hematófagos.

En Brasil las hojas, raíces y tallos son utilizados para combatir úlceras, reumatismo, como diurético, astringente y cicatrizante; las semillas para combatir enfermedades intestinales causadas por vermes (Crisci y Gancedo, 1971). Las Aráceas ocupan un lugar importante en la medicina popular de muchos países; son usadas como anticonceptivos orales por indígenas del alto Amazonas. En Argentina se emplean como abortivo en algunas comunidades indígenas del Chaco, y para combatir ciertos tumores. El mimbre, que es el tallo de la especie *Heteropsis ecuadorensis*, es utilizado para la elaboración de cestos y muebles (Freire Fierro, 2004).

Camacho (*Xanthosoma undipes* Koch)

Xanthosoma es un género de cerca de 50 especies de plantas tropicales y subtropicales de la familia Araceae. Son todas nativas de América. Varias especies son cultivadas por sus cormos ricos en almidón, y son una importante fuente de alimento en varias regiones. Son utilizadas también como plantas ornamentales, por sus lustrosas y grandes hojas (Royal Botanic Gardens, 2009).

Descripción de la especie

Xanthosoma undipes Koch es una especie de la familia de las aráceas, originaria de América Central, cultivada extensamente en las regiones tropicales. En el oriente ecuatoriano es comúnmente conocida como Camacho. De tipo herbácea con 3 a 18 segmentos. Las hojas tienen una longitud de 40 a 200 centímetros de largo, son acorazonadas sagitadas (con punta). No son pecioladas por el centro, sino que el corte en V se extiende al punto de unión de la salida del pecíolo a la hoja (Figura 1.5) (Royal Botanic Gardens, 2009). Actualmente es cultivado en Cuba , República Dominicana, Panamá y Puerto Rico; en Filipinas y en África occidental se considera un sustituto de los ñames en el plato regional llamado fufu (Freire Fierro, 2004).

Crece en un ciclo de 9 a 11 meses, durante los cuales produce un vástago subterráneo llamado cormo, rodeado por cormelos comestibles más pequeños, del tamaño de papas. Cormos y cormelos son ricos en almidones y contienen entre 1 y 8,8% de proteína, son descritos "como de nueces terrosas" y son un ingrediente común de sopas y guisados.

Pueden también ser comidos asados, fritos, o en puré. Las hojas jóvenes de algunas especies pueden comerse hervidas como verduras o en sopas, pucheros, cocidos o estofados, tales como el callaloo del Caribe (Freire Fierro, 2004).

Los almidones del *Xanthosoma* tienen la ventaja de ser hipoalérgicos por su granulación muy pequeña. La reproducción es efectuada a partir de la plantación de cormelos o por hijuelos. La profundidad de siembra es de 20 a 40 cm. Tras arar el suelo se depositan lo cormos o cormelos (Royal Botanic Gardens, 2009)



Figura 1.5 Fotografía de Camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) en la provincia de Orellana, ciudad la Joya de los Sachas (Musó, 2012).

Algunas especies son sembradas mediante su pseudotallo. La madurez se establece porque las hojas se tornan amarillentas e inicia la aparición de hijuelos al lado de la planta madre. Se las considera también como plantas medicinales (Freire Fierro, 2004). La tabla 1.1 presenta la taxonomía de *Xanthosoma undipes* Koch.

Tabla 1.1 Taxonomía del Camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) (Royal Botanic Gardens, 2009).

Reino	Plantae
División	Angiospermae
Clase	Liliopsida
Orden	Alismatales
Familia	Araceae
Subfamilia	Aroideae
Género	<i>Xanthosoma</i>
Especie	<i>X. undipes</i>

1.4.9.2. Cabezona (*Cyperus aggregatus*)

Características botánicas de la familia Cyperaceae

Porte: hierbas perennes o anuales; con frecuencia rastreras, rizomatosas, sin crecimiento secundario y aspecto en general graminoide; tallos macizos y de sección trígona, sin diferenciación de nudos y entrenudos (Facena Unne, 2007).

Hojas: alternas, con una vaina cerrada, y una lámina por lo común estrecha y más o menos alargada, paralelinervia, incluso reducida o suprimida; una lígula adaxial a veces presente en la unión de la vaina con la lámina, pero generalmente no tan bien desarrollada (Facena Unne, 2007).

Flores: inconspicuas; perfectas o a menudo imperfectas, generalmente monoicas; sésiles en las axilas de brácteas (glumas) dispuestas en espiral o dísticas formando espigas o espiguillas que pueden ser solitarias y terminales, pero con frecuencia forman varios tipos de inflorescencias secundarias umbeliformes, racemiformes o capituliformes; a veces presenta una pequeña bráctea entre la flor y el eje de la espiga o espiguilla. La polinización es mayormente anemógama, pero aquella realizada por insectos puede ocurrir en algunas especies con brácteas coloreadas o blancas, o donde las hojas superiores son conspicuamente amarillas o blancas (Dahlgren, 1985).

Perigonio: 3-6 setas o escamas, cortas o alargadas; o ausente (Dahlgren, 1985).

Androceo: 1-3 estambres, filamentos a veces acrescentes, anteras basifijas (Dahlgren, 1985).

Gineceo: ovario súpero, 2-3 carpelos soldados, unilocular, uniovulados, placentación erecta; estilo dividido (Dahlgren; 1985). Fruto: aquenio trígono o lenticular, desnudo o envuelto por un utrículo (Facena Unne, 2007).

Semillas: embrión pequeño de media talla, usualmente con un cotiledón terminal, embebido en un endosperma copioso, el cual es más o menos feculento, o bien aceitoso y con una capa proteínica (Facena Unne, 2007).

Distribución/Hábitat de la familia Cyperaceae

Cosmopolita, creciendo en la mayoría de los hábitats de regiones frías templado-cálidas y tropicales de ambos hemisferios. La siguiente figura muestra la distribución geográfica de la familia Cyperaceae.

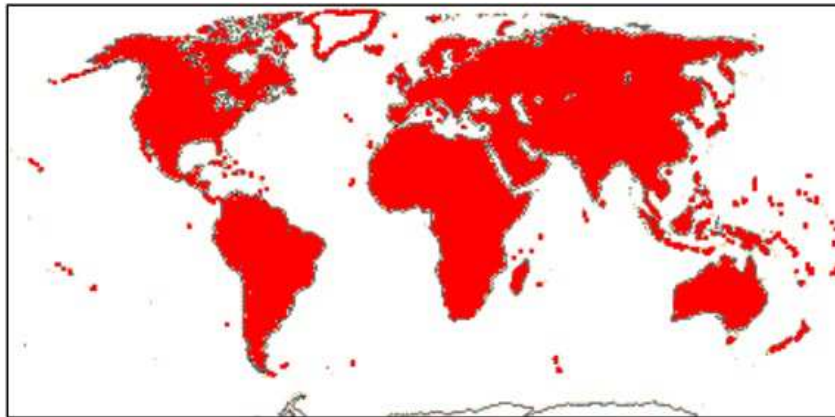


Figura 1.6 Distribución geográfica de la familia Cyperaceae (Facena Unne, 2007).

Importancia de la familia Cyperaceae

Por ejemplo *Cyperus papyrus* es utilizada en India y África para la fabricación de papel (papiro), sus fibras no presentan gran contenido en celulosa y son cortas para tener suficiente resistencia a la tensión por lo que para su utilización son mezcladas con otras fibras de mayor calidad (Hill, 1965). *Cyperus tegetiformis* es utilizado para la elaboración de esteras junto a gramíneas y juncos de varias especies. Algunas especies como *Cyperus longus* y *Cyperus articulatus* poseen rizomas dulces, olorosos y raíces que se utilizan en perfumería (Heywood, 1985; Hill, 1965). Otras especies se utilizan en establos en lugar de paja, para techar o fabricar sombreros. *Eleocharis dulcis* se cultiva en China y Japón por poseer tubérculos comestibles. Algunas

especies de *Scirpus* se cultivan por poseer propiedades medicinales, como antidiarreicos o purgantes (Heywood, 1985).

Especies semejantes a cañas han sido usadas por varias poblaciones a través del tiempo, especialmente donde los árboles son escasos, para hacer balsas o embarcaciones sencillas. *Cyperus esculentus* posee tubérculos empleados en la elaboración de una bebida refrescante llamada “chufa” u “horchola”, o se consumen como alimentos, crudos o tostados y se usan para fabricar una harina “racahoret” (Guaglianone, 1996).

Cabezona (*Cyperus aggregatus*)

El género *Cyperus*, establecido por Linneo en 1753, perteneciente a la familia de las ciperáceas está compuesto por unas 600 especies distribuidas por todos los continentes, tanto en regiones tropicales como templadas.

Descripción de la especie

Cyperus aggregatus son plantas perennes que pueden llegar a dominar o monopolizar ambientes determinados. En el oriente ecuatoriano es comúnmente conocida como Cabezona o cabezón. Sus tallos tienen una longitud que oscila entre 15-60 cm, ascendente cespitosos o próximos entre sí, brotando de un rizoma corto, duro y lisos. Hojas casi tan largas como los tallos y de 2-6 mm de ancho, ásperas en los márgenes y la costilla media. Presentan de 4 a 7 brácteas con una longitud de hasta 16 cm de largo y 0.4 cm de ancho, foliiformes, patentes horizontalmente o deflexas. En cuanto se refiere a su inflorescencia, cuenta con espigas sésiles y raramente más de una evidentemente pedunculada. Las espigas se presentan en un número de 1-4, con longitudes de 30 mm de largo y 11 mm de ancho, oblongas o elipsoides, simples. El raquis de la planta tiene una longitud de 25 mm, oculto por las espiguillas, a menudo acompañadas por bractéolas conspicuas. Las espiguillas tienen de 3-5 mm de largo y 1-1.4 mm de ancho, elípticas y más o menos cuadradas, engrosadas medialmente y compactas en el raquis. Glumas de 2.4 a 3.4 de largo por 1.8 a 2.5 mm de ancho, elípticas a ovadas, obtusas. Las glumas son distales a menudo vacías y rugosas. En cuanto a los estambres

presenta un número de 3 y un estilo con dimensiones de 0.7 a 1.1 mm. Sus aquenios tienen 1.8-2.1 mm de largo y 0.8-1 mm de ancho, ampliamente elipsoides, obtusamente trígonos, apiculados, subestipitados, finamente punticulados y pardos.

Pueden crecer en áreas abiertas junto a diversos pastos, bordes de carreteras, áreas boscosas y matorrales. La figura siguiente muestra un espécimen de *Cyperus aggregatus* en la provincia de Orellana, ciudad Joya de los Sachas. La taxonomía de *Cyperus aggregatus* se presenta en la tabla 1.2.



Figura 1.7 Fotografía de Cabezona (*Cyperus aggregatus*) en la provincia de Orellana, ciudad la Joya de los Sachas (Musó, 2012).

Tabla 1.2 Taxonomía de la Cabezona (*Cyperus aggregatus*) (Fedón, 2007).

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Subclase	Commelinidae
Orden	Poales
Familia	Cyperaceae
Género	<i>Cyperus</i>
Especie	<i>C. aggregatus</i>

1.4.9.3. Girasol (*Helianthus annuus L*)

Características botánicas de la familia Asteraceae

Porte: plantas herbáceas, excepcionalmente arbóreas, erectas, trepadoras o rastreras. Cuentan con inulina (polifruetosano) como material de reserva de carbohidrato. Algunas producen sustancias aromáticas (*Tagetes pusilla*, anís) y otras látex (*Latuca sativa*, lechuga) (Freire Fierro, 2004).

Hojas: alternas u opuestas; simples, generalmente lobadas o dentadas; o pueden estar ausentes (Facena Unne, 2007).

Flores: en inflorescencias conocidas con el nombre de capítulo (pseudanto), formado por muchas o pocas flores, rara vez reducida a una flor como en Echinops. Los capítulos pueden ser: homógamos cuando todas las flores son iguales, perfectas, estaminadas o pistiladas; heterógamos: cuando las flores centrales son perfectas y las periféricas pistiladas o estériles. De acuerdo a su morfología, los capítulos pueden ser radiados: flores tubulosas en el centro y liguladas en el borde como las margaritas; discoideos: si sólo constan de un solo tipo de flor, que pueden ser tubulosas o todas liguladas (Freire Fierro, 2004).

Perianto: sépalos modificados en forma de pelos, escamas o aristas que, posteriormente conformarán el "papus" usado para la dispersión del fruto. Las flores se insertan en un receptáculo común, convexo, plano o cóncavo, desnudo o piloso, o cubierto de brácteas (páleas) que protegen las flores. El capítulo está rodeado por el involucro herbáceo, coriáceo o membranáceo. Su corola es gamopétala, pentámera, de forma variada: tubular, filiforme, bilabiada o ligulada (Freire Fierro, 2004).

Androceo: cuenta con cinco estambres unidos por las anteras (sinantéreos), formando un tubo, dentro del cual corre el estilo. Es conectivo y prolongado en un ápice membranáceo ovado o lanceolado y tecas obtusas o agudas en la base (Freire Fierro, 2004).

Gineceo: ovario ínfero, bicarpelar, unilocular, uniovulado, de placentación basal, estilo simple, dividido en dos ramas lineares o lanceoladas, agudos, obtusas o truncadas, presentan en su interior papilas estigmáticas receptivas del polen, y en el exterior pelos colectores. El estilo durante la antesis emerge a través de este tubo llevando consigo los granos de polen liberado por las anteras. Una vez emergido el estilo, los estigmas se separan presentando así la superficie estigmática. Este tipo de adaptación para la polinización se conoce como polinización de pistón (Freire Fierro, 2004).

Fruto: cipsela (aquenio de ovario ínfero) a veces envuelto por pálea, por una bráctea involucral o por todo el involucre (Facena Unne, 2007).

Semillas: oleaginosas, embrión recto, grande, sin endosperma, germinación epígea (Facena Unne, 2007).

Distribución y Hábitat de la familia Asteraceae

Está ampliamente distribuida por todo el mundo (cosmopolita) pero se halla mejor representada en regiones semiáridas, tropicales y subtropicales (Heywood, 1985).

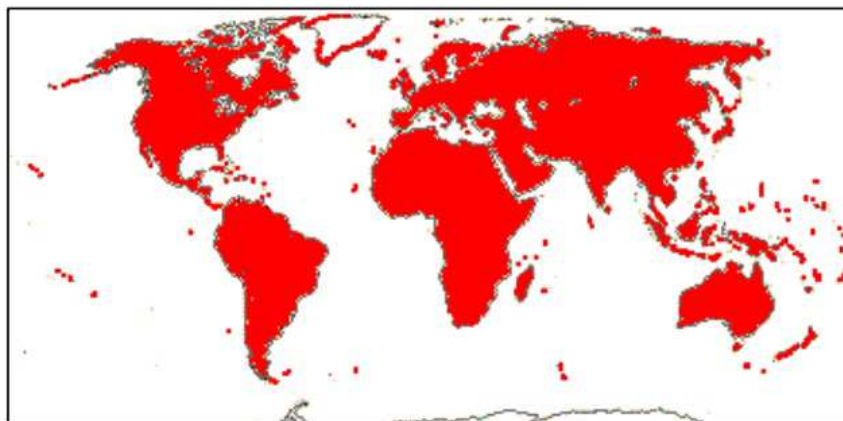


Figura 1.8 Distribución geográfica de la familia Asteraceae (Freire Fierro, 2004).

Importancia de la familia Asteraceae

Es la familia evolutivamente más exitosa dentro de las plantas con flores ya que la continua expansión de ésta ha sido acompañada por diversos cambios fitoquímicos que le han permitido desarrollar y explorar nuevos mecanismos defensivos como: alcaloides, conductos laticíferos, olores, etc. La familia incluye plantas alimenticias, medicinales, ornamentales e industriales pero también malezas y plantas tóxicas (Facena Unne, 2007).

Girasol (*Helianthus annuus*)

Era considerado exclusivamente como una planta ornamental hasta hace pocos años. Actualmente se conoce sus múltiples aplicaciones como materia prima para uso industrial y para la fitorremediación de sitios contaminados (Krarup y Moreira, 1998).



Figura 1.9 Inflorescencia racemosa: capítulo en girasol (*Helianthus annuus*) (Gonzalez y Arbo, 2008).

Descripción de la especie

Helianthus annuus cuenta con una raíz pivotante que puede llegar a superar los 1.5 m de profundidad, dependiendo de las condiciones del suelo ya que es muy sensible a obstáculos físicos. Las raíces secundarias crecen horizontalmente de 10 a 30 cm del tallo principal y luego comienzan a hundirse y a ramificarse. El crecimiento de las raíces dura hasta aproximadamente 75 días. Sus cotiledones son grandes y emergen expandiéndose para lo cual no deben tener impedimentos físicos. Cuenta con un tallo único no ramificado. La ramificación desde el punto de vista genético es recesiva e influida por varios

factores. Bajo problemas ambientales puede llegar a ramificar. Puede medir desde 50 cm hasta más de 4 m. Posee hojas que van apareciendo de a pares hasta el quinto y de ahí de forma individual hasta completar un número variable de acuerdo al híbrido de entre 25 y 40 hojas. Su inflorescencia está compuesta de 700 a 3000 flores distribuidas en forma de arcos radiales saliendo del centro. Las flores fértiles dan origen a los aquenios (semillas). El conjunto de flores conforma el capítulo que puede medir desde 5 a 50cm de diámetro (Figura 1.9). Dicho capítulo puede ser cóncavo o convexo. Los capítulos jóvenes tienen heliotropismo positivo por lo que siguen la rotación del sol hasta que se desarrollan las flores, entonces quedan mirando a la salida del sol. El ciclo promedio del girasol comprende entre 100 y 150 días según genotipos, fechas de siembra, latitud y disponibilidad de agua y nutrientes (Krarup y Moreira, 1998). La taxonomía del girasol se presenta en el siguiente cuadro:

Tabla 1.3 Taxonomía del girasol (*Helianthus annuus*) (Krarup y Moreira, 1998).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Asteroideae
Tribu	Heliantheae
Género	<i>Helianthus</i>
Especie	<i>H. annuus</i>

1.4.9.4. Dalis (*Brachiaria decumbens*)

Características botánicas de la familia Poaceae

Porte: son comúnmente hierbas, a veces arbustos altos y leñosos. Presentan un tallo o caña (aéreos) erecto, postrado, decumbente, escandente y rizomas, tubérculos (subterráneos). Cuando son especies rastreras los nudos son radicales y forman estolones (plantas nuevas); las raíces embrionarias

primarias son de duración limitada y se reemplazan por caulinares adventicias en los nudos, sus tallos son cilíndricos o algo comprimidos, diferenciados en nudos y entrenudos; éstos últimos son huecos o rara vez macizos, como en la caña de azúcar, con una porción basal de crecimiento activo (meristema intercalar). Sus nudos poseen una o varias yemas laterales, las cañas son pinnadas en gramíneas anuales y ramificadas en perennes. La ramificación es basal dominante a partir de yemas en nudos inferiores (Burkart, 1969).

Hojas: son alternas, dísticas, con vaina larga, abrazadora, generalmente hendida, y en casos excepcionales se presenta cerrada, poseen una lígula membranosa que puede ser ciliada o entera, o reducida a pelos (pilosa o pestañosa). A menudo presentan dos lóbulos laterales prolongados en dos apéndices en la zona de unión de vaina y lámina. El pecíolo se encuentra ausente o con pseudopecíolo. Su lámina es lineal, plana, lanceolada, membranácea o fibrosa y la epidermis contiene células silíceas (Burkart, 1969).

Flores: perfectas o diclinas presentes en inflorescencias compuestas: espiga, racimo, panoja o panoja espiciforme de espiguillas. Cada espiguilla organizada dísticamente, consta de un par de pequeñas brácteas subopuestas (glumas) en la base y 1 ó varias flores, alterando a ambos lados de un eje en zig-zag (raquilla) por encima de las glumas. Cada flor posee en su base dos glumelas: la inferior mayor o lemna, por lo común unicarenada, que abraza la superior de menor tamaño y biaquillada llamada pálea. Por arriba de la lemna y pálea se encuentran dos órganos laterales conocidos como lodículas que representan un perianto muy reducido, que contribuye, por aumento de turgencia, a abrir el antecio durante la antesis. La lemna y la pálea, junto con un trozo de raquilla y la flor forman el antecio (León, 1987).

Perianto: es rudimentario y, como ya se mencionó, es llamado lodículas (León, 1987).

Androceo: presenta comúnmente tres estambres, aunque algunas especies cuentan con seis (Bambusóideas) y raramente 2 ó 1. Las anteras son

elongadas, basifijas pero tan profundamente sagitadas que parecen versátiles (León, 1987).

Gineceo: es súpero con 3 a 2 carpelos unidos por el borde en ovario unilocular. El óvulo es único, parietal y sésil (León, 1987).

Fruto: su fruto cariopse, rara vez aquenio o utrículo. Se presenta usualmente encerrado por la lemna y pálea que facilitan la dispersión a través de pelos, ganchos o aristas (Burkart, 1969).

Semillas: cuentan con un endosperma copioso, en gran parte feculento y usualmente harinoso, con granos de almidón simples o compuestos y usualmente con segmentos proteinaceos o aceitosos. Su embrión es basilateral y de estructura compleja (Burkart, 1969).

Distribución y Hábitat de la familia Poaceae

Es una familia cosmopolita, de gran importancia por su distribución mundial y por su utilidad (Figura 1.10).

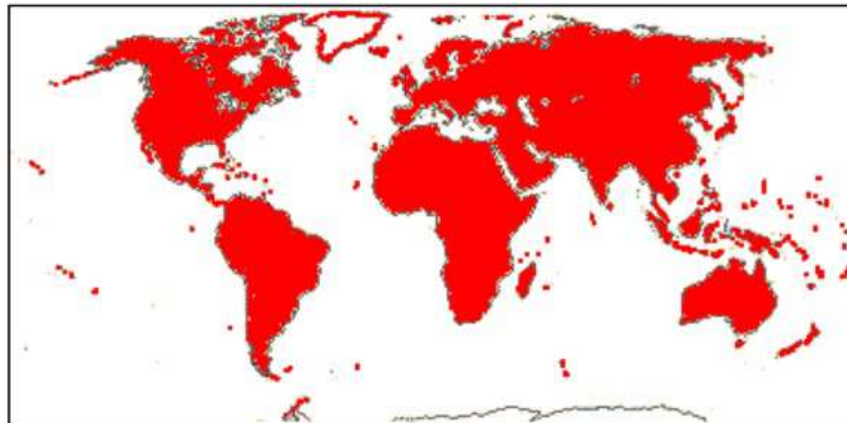


Figura 1.10 Distribución geográfica de la familia Poaceae (Facena Unne, 2007).

Importancia de la familia Poaceae

La familia Poaceae reúne a los cereales que son una de las fuentes más importante de alimento vegetal para el hombre y para los animales

inferiores. Así, los cereales verdaderos son seis: cebada, maíz, avena, arroz, centeno y trigo. De ellos los más importantes son el trigo, maíz y arroz (Hill, 1965). Todos se utilizan principalmente por contener una alta proporción de carbohidratos y, en menor cantidad, proteínas y vitaminas. Otro uso importante de estas especies se da con su utilización en la industrial de subproductos para obtener almidón, aceite y otros (León, 1987). Según Hill (1965), el éxito de los cereales es que existen uno o más para cada tipo de clima, necesitan poco laboreo y proporcionan gran rendimiento. Otras especies como la caña de azúcar constituyen en los trópicos, la principal fuente de azúcar y dan lugar a una intensa explotación industrial (León, 1987).

Los usos secundarios de las gramíneas son la extracción de aceites esenciales de hojas y raíces y la utilización de los tallos duros de los bambúes, que tienen múltiples aplicaciones, en la construcción por ejemplo (León, 1987). Poseen además importancia por la cantidad de especies que se usan como forrajeras, aunque diversas gramíneas son tóxicas para el ganado. Otra aplicación se le da en jardinería para la formación de céspedes, tapiz o carpeta verde, fundamental en la constitución de parques (Nicora, 1987). Es importante mencionar otros usos menores como cuentas de collares, brochas de pinceles, cazoletas de pipas, brotes comestibles de bambú, flautas, cañas de pescar o inflorescencias teñidas de llamativos colores que se venden para decoración doméstica (Facena Unne, 2007).

Dalís (*Brachiaria decumbens*)

Esta gramínea, es originaria del África, tiene un amplio rango de adaptación, desde el nivel del mar hasta 2200 msnm. Es resistente a las sequías y las quemas. Soporta bien las condiciones de acidez del suelo, altos niveles de saturación de hierro y aluminio. Se emplean exclusivamente en pastoreo, preferentemente con animales adultos pues pueden producir signos de foto sensibilización en animales jóvenes. Es un pasto rastrero y estolonífero que constituye una buena cubierta en las regiones más húmedas (Salamanca, 1983).

Descripción de la especie

Brachiaria decumbens es un pasto estolonífero decumbente de mediana resistencia a la sequía, pisoteo y exigencia de fertilidad de suelo. Produce entre 7 y 8% de proteína bruta y entre 9-11 Tn de materia seca. Es una planta herbácea, perenne, semierecta a postrada, que puede alcanzar de 30 a 100 cm de altura. Sus raíces son fuertes y duras y sus culmos son de cilíndricos a ovados. Las hojas miden entre 20 y 40 cm de largo y de 10 a 20 mm de ancho y están cubiertas por tricomas. Presenta una inflorescencia en forma de panícula racemosa (Figura 1.11). Sus macollos son decumbentes pero sus ápices se encuentran erguidos verticalmente y los nudos enraízan con facilidad (Salamanca, 1983). La tabla 1.4 muestra la taxonomía de el pasto dalis (*Brachiaria decumbens*).

Tabla 1.4 Taxonomía de dalis (*Brachiaria decumbens*) (León, 1987).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Género	<i>Brachiaria</i>
Especie	<i>B. decumbens</i>



Figura 1.11 Inflorescencia de dalis (*Brachiaria decumbens*) (Salamanca, 1983).

1.4.9.5. Maíz (*Zea mays*)

Descripción de la especie

Es una hierba anual vigorosa, de tallo erguido, nudoso y macizo, entre 60 cm y más de 6 m de altura (Figura 1.12). Su raíz es fibrosa y fasciculada. Presenta hojas alternas, lineales o lanceoladas y largas (Caviedes *et al.*, 2007). Sus flores son monoicas (las masculinas se encuentran separadas de las femeninas pero en la misma planta); las flores masculinas están dispuestas en una inflorescencia de tipo panícula de aproximadamente 30 cm de largo (en la parte terminal del tallo) que está formada por racimos que llevan numerosas flores pequeñas (espiguillas), dispuestas en pares, de 8 a 12 mm de largo. Por otro lado, la inflorescencia femenina es una estructura axilar única, variable en tamaño y forma, llamada mazorca, con varias hojas modificadas (brácteas) llamadas panca que envuelven el grueso eje central (coronta) sobre el cual se distribuyen las espiguillas en filas. Cabe mencionar que las espiguillas siempre están en pares (Yáñez, 2007).

Su fruto es cariósido (grano) de tamaño, forma, color y contenido de azúcar-almidón variables, se dispone sobre el receptáculo cilíndrico o raquis (coronta). La longitud de la mazorca oscila entre 7.5 cm y 50 cm. El color de los granos puede ser blanco, amarillo, rojo, morado, marrón, verde, azul o morado (Yáñez, 2007). La taxonomía del maíz se presenta en el siguiente cuadro:

Tabla 1.5 Taxonomía del maíz (*Zea mays*) (Yáñez, 2007).

Reino	Plantae
Clase	Liliopsida
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Subfamilia	Panicoideae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>Z. mays</i>



Figura 1.12 Maíz (*Zea mays*) (Yáñez, 2007).

1.5. Hipótesis

- El camacho (*Xanthosoma undipes* Koch), especie vegetal nativa en el área de influencia de EP PETROECUADOR en el Distrito Amazónico, reduce significativamente la concentración de cadmio en suelos contaminados.

- Existe una concentración de cadmio por encima de la cual el camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) manifiesta niveles de toxicidad que afectan su fisiología.
- Existe una especie vegetal, diferente al camacho, con potencial fitorremediador para tratamiento *ex situ* de suelos contaminados con cadmio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Participantes

Centros de apoyo de la investigación

- Centro de Investigación de Tecnologías Ambientales (CITVAS) de EP-PETROECUADOR, en el Cantón La Joya de los Sachas, Ciudad La Joya de los Sachas, provincia de Francisco de Orellana, Ecuador.
- Escuela Politécnica del Ejército.

Líderes del proyecto

- Ing. Juan Carlos López: investigador del Centro de Investigación de Tecnologías Ambientales (CITVAS) de EP-PETROECUADOR y responsable del área de Fitología.
- Ing. Ana María Villarroel: investigadora del Centro de Investigación de Tecnologías Ambientales (CITVAS) de EP-PETROECUADOR y responsable del área de Fitología.
- M. Sc. Mónica Jadán G.: directora del proyecto de tesis, docente e investigadora de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Escuela Politécnica del Ejército.
- Ing. M. Sc. Norman Soria I.: codirector del proyecto de tesis, docente e investigador de la Carrera de Ingeniería en Biotecnología de la Escuela Politécnica del Ejército.

Otros

- Ing. Jaime Gía: docente colaborador del Instituto Agropecuario Superior Andino (IASA).
- Ing. Blanca Naranjo: docente colaborador de la Escuela Politécnica del Ejército.
- Jorge Javier Muso Cachumba: responsable del desarrollo de la presente investigación.

2.2. Zona de Estudio

2.2.1. Campos de la provincia de Francisco de Orellana en la ciudad Joya de los Sachas

La obtención de las muestras vegetales y del suelo utilizado en el presente proyecto se la realizó en campos aledaños a la ciudad La Joya de los Sachas, en la parroquia de San Carlos.

2.2.2. Centro de investigaciones de tecnologías ambientales

La investigación, análisis y desarrollo de la mayoría del presente estudio fue llevado a cabo en los laboratorios del Centro de Investigación de Tecnologías Ambientales (CITVAS) de EP-PETROECUADOR, en el Cantón La Joya de los Sachas, Ciudad La Joya de los Sachas, provincia de Francisco de Orellana.

2.2.3. Escuela Politécnica del Ejército

La determinación de la actividad antioxidante de las muestras vegetales se la realizó en las instalaciones de los laboratorios de la carrera de ingeniería en biotecnología de la Escuela Politécnica del Ejército, localizados en Sangolquí, provincia de Pichincha; y en el laboratorio de química orgánica de la carrera de ingeniería agropecuaria (IASA), localizados en Selva Alegre, provincia de Pichincha.

2.3. Período de tiempo de investigación

El proyecto de investigación dio inicio el mes de febrero del 2012 y terminó en el mes de septiembre del 2012, con una duración para la parte práctica de 7 meses.

2.4. Diseño

2.4.1. Primera etapa de la investigación: Determinación de la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch)

La determinación de la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) se la realizó mediante un diseño experimental completamente al azar (DCA), con el fin de comparar los tratamientos y error aleatorio (Gutiérrez *et al.*, 2008).

Se recolectó la especie nativa en estudio de campos libres de contaminación con hidrocarburos. La unidad experimental fue de seis plantas de camacho (*Xanthosoma undipes* Koch), las cuales se sometieron a cuatro diferentes soluciones de cadmio con concentraciones de 0, 20, 40 y 60 ppm respectivamente, las mismas que tuvieron 5 repeticiones de la unidad experimental dando un total de 120 plantas para esta primera etapa. Se elaboraron tres testigos (sin planta) para cada una de las concentraciones. La actividad fitorremediadora de Cd de las especies fue evaluada de forma individual, para cada repetición, mediante tres análisis (inicial, medio y final).

Para la determinación de la tolerancia y niveles de toxicidad del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) a la exposición de las diferentes concentraciones de Cd, se efectuó mediante análisis de clorofila, carotenoides y especies reactivas de oxígeno (ROS).

2.4.2. Segunda etapa de la investigación: Ensayo en campo con especies vegetales con potencial fitorremediador

Al igual que en la primera etapa, del proyecto, el ensayo de campo con especies vegetales con potencial fitorremediador fue descrito a partir de un diseño experimental completamente al azar (DCA). Se construyó una plataforma con seis cubetos de 3 m de largo, 2 m de ancho y 30 cm de altura, aproximadamente, en los cuales se colocó un volumen aproximado de 1,5 m³ de suelo contaminado con una determinada concentración de cadmio.

En cada cubeto se sembró una especie diferente de planta (camacho, cabezona, maíz, girasol y dalis), siendo el cubeto restante el testigo del experimento libre de especie vegetal. La actividad fitorremediadora de las especies fue evaluada de forma individual mediante dos análisis (inicial y final).

2.5. Metodología

2.5.1. Primera etapa de la investigación: Determinación de la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch)

2.5.1.1. Acopio de sustrato y plantas a utilizar en el ensayo

Fue importante, para el inicio del ensayo, la adecuación y preparación del invernadero perteneciente al CITVAS, en el cual se eligió el área idónea para el montaje del experimento. El suelo y las especies vegetales de camacho, que fueron utilizadas, se recolectaron de campos libres de contaminación con hidrocarburos en terrenos aledaños a la ciudad de La Joya de los Sachas-provincia de Orellana, en la parroquia de San Carlos. Se recolectaron aproximadamente 160 plantas de camacho desprendiéndolas del suelo completamente y cuidando de obtener plantas completas (parte aérea y raíz). En cuanto al suelo, se recolectó un aproximado de 120 kg (3 quintales), los cuales procedieron de lugares limpios y libres de contaminación. El suelo y las especies vegetales se trasladaron a las instalaciones del CITVAS para su posterior uso.

2.5.1.2. Plantación y prendimiento de las especies seleccionadas para el estudio

Preparación del sustrato para la siembra de plantas

Según J. C. López las proporciones ideales para elaborar un buen sustrato son: 50% suelo enriquecido con algún tipo de abono orgánico, 30% de algún tipo de material poroso y 20% de arena (comunicación personal, Marzo 27, 2012). Así se preparó un total de 150 kg de sustrato, el mismo que contenía 50% de suelo libre de contaminación enriquecido con abono orgánico a base de hojas, 30% de fibra de palma como material poroso y 20% de arena

recogida del río Valladolid ubicado en la parroquia Valladolid en el cantón La joya de los Sachas.

Plantación de las especies vegetales en macetas

Se podó la parte aérea de las plantas recolectas dejando a cada una, con una longitud de 15 cm desde la base del tallo y se podó también las raíces más largas como se muestra en la figura 2.1.



Figura 2.1 Fotografía de una planta de camacho lista para su plantación (Muso, 2012).

Según J. C. López, el sistema radicular se introdujo en una solución de un litro de agua que contenía un gramo de vitavax y un g de enraizante (Bio Wurzel), con el fin de facilitar el prendimiento y enraizamiento de las especies en el sustrato (comunicación personal, Marzo 27, 2012). Posteriormente la siembra se la realizó en una maceta que contenía kg del sustrato, elaborado anteriormente, y se las colocó en el invernadero. Se aplicó Evergreen como un fertilizante foliar y bioestimulante, disolviendo 0,5 ml en un litro de agua, según J. C. López (comunicación personal, Marzo 27, 2012).

2.5.1.3. Determinación de las concentraciones de cadmio en suelo y planta

Para la determinación de las concentraciones de Cd se precisó de un muestreo previo que se describe a continuación:

Se pesó toda la maceta con el sustrato y la planta y se procedió a separar la misma completamente del sustrato. Se midió también la altura de la planta desde la base del tallo hasta la punta de la parte aérea. Posteriormente se separó la parte aérea de la raíz y se la pesó. Luego se tomó una muestra compuesta de sustrato procedente de dos macetas de cada repetición. Las muestras fueron guardadas en fundas previamente etiquetadas para su subsiguiente análisis. Estas muestras fueron utilizadas tanto para el análisis de Cd como para la determinación de clorofila y carotenoides (apartado 2.5.1.5) y actividad antioxidante (apartado 2.5.1.6).

Se determinó las concentraciones iniciales de Cd en suelo y planta (parte aérea y raíz), lo cual sirvió también para determinar si las muestras recolectadas se encontraban libres de contaminación con este metal pesado. Posteriormente las plantas fueron expuestas a las concentraciones de Cd propuestas (20, 40 y 60 ppm), como se explica en el apartado 2.5.1.4. Se realizó una segunda medición a los dos meses de exposición y una determinación final a los dos meses siguientes; logrando así una exposición total de 4 meses.

Los procedimientos, para el análisis de Cd, se basaron en el método EPA-3051 para las muestras vegetales y EPA-3052 para suelo, los mismos que se describen a continuación.

Muestra vegetal

Se lavó la muestra de parte aérea de las plantas con una solución jabonosa y se enjuagó con abundante agua. De la misma manera se lavaron meticulosamente las raíces de cada muestra con la misma solución jabonosa con el fin de liberarlas de todas las partículas del sustrato y se enjuagaron con

abundante agua. Se procedió a separar las raíces del corno característico del camacho. Tanto parte aérea, raíces y corno se secaron en una estufa WiseVen a 105 °C durante 12 horas posterior a las cuales se trituraron y se homogenizaron las muestras. Se tomó las muestras secas y se pesó 0,5 g de cada una en una balanza analítica Pioneer OHAUS y se las colocó en un tubo de teflón del microondas MARXpress de la corporación CEM debidamente etiquetados. Se colocó 10 ml ácido nítrico concentrado (65%) en cada tubo de teflón con muestra y se procedió a su digestión asistida con microondas, que se llevó a cabo bajo los siguientes parámetros:

Tabla 2.1 Parámetros para la digestión asistida por microondas de muestras vegetales (US-Environmental-Protection-Agency, 1996).

Fase	Potencia		Tiempo de rampa	Temperatura	Tiempo de mantenimiento
	Nivel	%			
1	1600 W	100	5:30	180°C	9:30

A continuación se procedió a filtrar los digestados y a recogerlos por separado en un balón aforado de 50 ml y se aforó con agua destilada. El digestado final se lo colocó en frascos de plástico debidamente etiquetados. Se midió también la humedad tanto de muestra fresca como de muestra seca de parte aérea, raíz y corno, colocando 5 g de muestra en un horno determinador de humedad OHAUS.

Muestra de suelo

Se secaron las muestras en una estufa WiseVen a 105 °C durante 12 horas. A continuación se trituró las muestras de sustrato con la licuadora industrial BLENDER de dos velocidades para homogenizarla. Se tamizó el triturado con la ayuda de un tamiz de 150 micras de apertura de poro. Se pesó 0,5 g de muestra seca con una balanza analítica Pioneer OHAUS y se colocó en un tubo de teflón del microondas MARSXpress de la corporación CEM debidamente etiquetado. Posteriormente se colocó 10 ml ácido nítrico concentrado (65%) en cada tubo de teflón con muestra dentro de la campana

de vapores. Se programó el microondas CEM para la digestión con las siguientes características:

Tabla 2.2 Parámetros para la digestión asistida por microondas de muestras de suelo (US-Environmental-Protection-Agency, 2007).

Fase	Potencia		Tiempo de rampa	Temperatura	Tiempo de mantenimiento
	Nivel	%			
1	1600 W	100	5:30	175°C	4:30

El material digerido se filtró y se recogió por separado en un balón aforado de 50 ml. Se aforó con agua destilada y se colocó en su frasco de plástico correspondiente.

Determinación de la concentración de Cd mediante absorción atómica por llama

Este procedimiento se basó en el método APHA-3500 B, para lo cual se preparó un litro de solución de ácido nítrico (HNO_3) al 0,7%, tomando 11 ml de HNO_3 al 65% y aforándolo a un litro. Se realizaron cinco estándares de Cd a partir de una solución madre AccuTrace Reference Standard para absorción atómica de 1000 ppm, como se muestra en el siguiente cuadro:

Tabla 2.3 Preparación de soluciones estándar de cadmio (Musó, 2012).

Concentración del estándar (ppm)	Volumen solución madre 1000 ppm (ml)	Volumen solución HNO_3 al 0,7% (ml)	Volumen total (ml)
0,5	25	49,975	50
1	50	49,95	
1,5	75	49,925	
2	100	49,9	
3	150	49,85	

Se realizaron las lecturas de cada uno de los digeridos mediante absorción atómica por llama con el Espectrofotómetro iCE 3000 SERIES. La

curva de calibración se realizó con la lectura de los cinco estándares elaborados (0,5, 1, 1,5, 2 y 3 ppm), utilizando la solución de HNO₃ al 0,7% como solución blanco. Se realizaron nuevos estándares para cada una de las mediciones. Cada vez que se realizó una medición, el equipo realiza una nueva regresión lineal con los datos de Abs y de concentración de Cd de los seis estándares incluido el blanco. Con la ecuación obtenida de la regresión, el equipo presenta los valores de la [Cd] de cada extracto con la siguiente ecuación de US-Environmental- Protection-Agency (2007):

$$\text{Concentración de la muestra} \left(\frac{\text{mg Cd}}{\text{kg de muestra seca}} \right) = \frac{(C)(V)(D)}{(W)(S)} \quad (2.1)$$

Donde:

C = Concentración del extracto (mg/l)

D = Factor de dilución

S = Fracción en peso de la muestra seca, g/g

V = Volumen del extracto (ml)

W = Peso de muestra fresca

Finalmente se obtuvo la concentración de Cd presente en cada muestra utilizando el porcentaje de humedad de la muestra fresca con la siguiente relación:

$$\frac{\text{mg Cd}}{\text{kg de muestra fresca}} = \frac{\text{mg Cd}}{\text{kg de muestra seca}} * \frac{(100 - \% \text{Humedad}) \text{kg de muestra seca}}{100 \text{ kg muestra fresca}} \quad (2.2)$$

Cabe mencionar las características utilizadas por el Espectrofotómetro iCE 3000 SERIES para el análisis de Cd, las cuales se muestran a continuación:

Tabla 2.4 Características del Espectrofotómetro iCE 3000 SERIES para análisis de Cd (Thermo-Fisher-Scientific, 2008).

Cadmio	No. Atómico	48
	No. Másico	112,40
Corriente de lámpara	Uso normal	75%
	Mejor sensibilidad	50%
	Mejor precisión	100%
Equipo	Longitud de onda primaria	228.8 nm
	Paso de banda	0.5 nm
	Rendimiento	0,013 mg/l
	Longitud de onda de emisión	326,1 nm
	Longitud de onda secundaria	326,1 nm
	Reducción de la sensibilidad	500 X
Detalles de la llama	Tipo	Aire/Acetileno
	Química	Estequiométrica
	Velocidad de flujo del combustible	1.0 a 1.3 L/min
	Señal	1.5 mg/l para 0.4 A

2.5.1.4. Preparación y administración de las soluciones de cadmio en el suelo

Se realizó una aplicación fraccionada de 50 ml una vez por semana durante cuatro semanas, llegando a un volumen final de 200 ml, de la solución de Cd correspondiente, para cada una de las plantas de camacho (*Xanthosoma undipes* Koch). Para cada aplicación semanal, se elaboró un volumen de 1700 ml de solución de Cd para cada concentración, como se describe en el cuadro 2.5.

Tabla 2.5 Soluciones de Cd a diferentes concentraciones (Muso, 2012).

Concentración (ppm)	Masa de CdCl ₂ (mg)	Volumen de agua destilada (ml)
20	55,446	1700
40	110,893	
60	166,339	

El cloruro de cadmio (CdCl₂) utilizado procedió de la empresa ALDRICH Chemistry con una pureza del 99,99 %.

2.5.1.5. Determinación de clorofila y carotenoides de la especie vegetal

Según Lichtenthaler y Wellburn (1983), se pesaron 0,2 g de una muestra de hojas y se las colocó en el mortero. Luego se adicionaron 5 ml de acetona en el mortero y se trituro la muestra vegetal fuertemente y lo más rápido posible para evitar la evaporación de la acetona. Posteriormente se pasó el extracto a un tubo falcon cubierto completamente con papel aluminio para evitar su fotodegradación. Se completó con acetona el volumen hasta los 5 ml grabados en el tubo falcon. A continuación, se centrifugaron los extractos por 5 min a 1000 rpm en una centrífuga 5804 de marca Eppendorf. Se colocó un ml (1000 µl) del extracto en una cubeta de cuarzo y se leyó la absorbancia a las siguientes longitudes de onda: 470, 645 y 662 nm, en un espectrofotómetro DR 5000 de marca HACH. Para la determinación del valor de clorofilas y carotenoides se ocupó las siguientes ecuaciones Lichtenthaler y Wellburn (1983):

$$Chl\ a = 11,24\ Abs_{661,6} - 2,04\ Abs_{644,8} \quad (2.3)$$

$$Chl\ b = 20,13\ Abs_{644,8} - 4,19\ Abs_{661,6} \quad (2.4)$$

$$\text{Carotenoides} = \frac{1000 \text{ Abs}_{470} - 1,90 \text{ Chl } \alpha - 63,14 \text{ Chl } b}{214} \quad (2.5)$$

2.5.1.6. Determinación de la actividad antioxidante mediante la técnica del Radical libre DPPH (2,2-difenil, 1-picrilhidracilo)

Según J. Gía, se realizó una extracción metanólica de las muestras vegetales, pesando 5 g de una muestra de plantas de camacho (incluyó hojas y tallos) y colocándolas en un frasco de plástico al que también se añadió 50 ml de Metanol al 50% y se procedió a taparlo bien. A todos los frascos obtenidos se los aisló completamente de la luz para evitar la fotodegradación. La extracción se la realizó durante 48 horas, después de las cuales se separó los extractos de los restos vegetales (comunicación personal, Mayo 07, 2012).

Para determinar la actividad antioxidante de los extractos de parte aérea de Camacho se utilizó el procedimiento de Rivero (2006). En primer lugar se realizó una curva de calibración con una solución metanólica del radical libre DPPH, la cual fue diluida desde una concentración de 1 mM hasta 0,1 mM en intervalos de 0,2, midiendo la absorbancia de cada dilución a 517nm. Estos datos sirven para obtener la ecuación de concentración de DPPH (Ecuación 2.7) a partir de la regresión lineal de la curva de calibración (Ecuación 2.6).

$$y = ax + b \quad (2.6)$$

Donde:

y= Abs₅₁₇hm

x= [DPPH]

Por lo tanto:

$$[\text{DPPH}] = \frac{\text{Abs}_{517} - b}{a} \quad (2.7)$$

Para medir el poder antioxidante de cada extracto se procedió a mezclar 1 ml de extracto con 1 ml de solución 1 mM de DPPH en una celda de

cuarzo donde se midió la absorbancia a 517 nm a los 30 minutos después de la mezcla.

2.5.2. Segunda Etapa: Ensayo en campo con especies vegetales con potencial fitorremediador

2.5.2.1. Elaboración de la plataforma para el ensayo de fitorremediación

Se eligió un terreno plano con un área aproximada de 80 m² y se desbrozó toda la superficie. Con la ayuda de maquinaria pesada se realizó un canal de 80 cm de ancho, y de un metro de profundidad que finalizaba en otro canal más grande de descarga general. Se realizaron seis cubetos alrededor del canal, los cuales tuvieron tres metros de largo, dos de ancho, 30 cm de profundidad y un ángulo de inclinación de aproximadamente 2° y se procedió a cubrir con geomembrana la superficie total de la plataforma (Figura 2.2).



Figura 2.2 Fotografía de la estructura de la plataforma cubierta con geomembrana (Musso, 2012).

A continuación se colocó, en cada cubeto, un tubo PVC de 8 pulgadas y tres metros de longitud, perforado con una broca de 3/8 dejando así agujeros de un cm de diámetro aproximadamente, solo por la parte de arriba y dejando

50 cm del tubo sin perforar, el cual sirvió como un sistema recolector de lixiviados. Se colocó, encima del tubo y cubriendo toda el área de cada cubeto, una delgada capa de ripio y sobre esta una capa de arena como un lecho filtrante y sistema de drenaje, según C. Chávez (comunicación personal Mayo 25, 2012) (Figura 2.3).



Figura 2.3 Fotografía del sistema de drenaje en cada uno de los cubetos (Musó, 2012).

Posteriormente se crearon falsas paredes, en el extremo libre de cada cubeto, con la ayuda de costales llenos de tierra colocándolos a manera de diques y se colocó un recipiente recolector de lixiviados al final de cada tubo PVC en los 6 cubetos. Finalmente se colocó suelo libre de contaminación sobre el lecho filtrante, en un volumen aproximado de $1,5 \text{ m}^3$, en cada uno de los cubetos como se muestra en la figura 2.4.



Figura 2.4 Fotografía de la plataforma lista para la plantación y siembra de especies vegetales y montaje del ensayo (Muso, 2012).

2.5.3. Administración de la solución de Cd a la plataforma de fitorremediación

Según A. M. Villarroel y J. C. López (comunicación personal en Mayo, 30, 2012), se colocó en cada cubeto una solución de Cd que contenía 10 g de CdCl_2 diluidos en un volumen de 40 litros. La administración de la solución se realizó con la ayuda de una regadera, dividiendo cada cubeto en cuatro cuadrantes y administrando 10 litros de la solución en cada cuadrante como muestra la figura siguiente:



Figura 2.5 Fotografía de la administración de la solución de Cd en cada cubeto (Muso, 2012).

Una vez finalizado el proceso se procedió a tapar a toda la plataforma con plástico para impedir el contacto de la lluvia con el suelo de la plataforma y así evitar que el Cd sea arrastrado fuera de la misma. Se esperó durante 3 días la estabilización del suelo de los cubetos con la solución de Cd. Finalmente se cercó toda la plataforma con una cinta de peligro a manera de baliza, como una medida de seguridad necesaria (Figura 2.6).



Figura 2.6 Fotografía de la estabilización del suelo con la solución de Cd (Muso, 2012).

2.5.3.1. Siembra de las especies vegetales

De acuerdo a las necesidades e intereses de los investigadores del CITVAS J. C. López y A. M. Villarroel (comunicación personal en Junio, 07, 2012), se eligieron 5 especies con potencial fitorremediador incluyendo la especie nativa motivo de estudio de este proyecto. Así, se eligió dos especies nativas: cabezona (*Cyperus aggregatus*) y camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) y tres especies más: girasol (*Helianthus annuus* L), dalis (*Brachiaria decumbens*) y maíz (*Zea mays*). Las especies nativas fueron sembradas en un número de 25 plantas para el camacho y 35 plantas para la cabezona, la diferencia se debió, según J. C. López, a que el camacho genera mucha más masa vegetal que la cabezona (Figura 2.7).



Figura 2.7 Fotografía de la siembra de cabezona (derecha) y camacho (izquierda) (Musso, 2012).

Para el ensayo con girasol y maíz, se trabajó con semillas realizando una siembra espaciada de 10 cm entre cada grupo de 3 semillas, sembrando en total 25 grupos de semillas. Finalmente, en el caso de Dalis se realizó una siembra por voleo.

2.5.3.2. Determinación de las concentraciones de cadmio en suelo y planta

Se seguirá el mismo procedimiento citado en el apartado 2.5.1.3, tanto para el análisis de suelo como para el de materia vegetal. Para la especie nativa se realizará una medición al inicio y al final del ensayo y para las otras tres especies adicionales en estudio, debido a que se trabajó con semillas, se esperó su germinación y solo se realizó una medición de la concentración de cadmio, de la parte aérea y raíz, al final del ensayo.

2.6. Análisis de datos

Para este objetivo se realizó un análisis de datos con el paquete estadístico InfoStat y se determinó la tasa de remoción de Cd para cada una de las especies en estudio, permitiéndonos comparar la eficacia de las mismas en la remediación de suelos contaminados con cadmio. El diseño experimental completamente al azar (DCA) se realizó con el fin de identificar el lugar de la planta donde existe mayor bioacumulación del contaminante. Se realizó también pruebas de Tukey con el fin de agrupar a los tratamientos.

3. RESULTADOS

3.1. Primera etapa de la investigación: Determinación de la capacidad fitorremediadora de cadmio del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch)

3.1.1. Tasa de remoción cadmio por parte del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch)

El estudio se realizó con cuatro concentraciones diferentes de Cadmio (0, 20, 40 y 60 ppm), cada una con un total de 30 individuos de estudio, las cuales (planta y suelo) fueron analizadas en el Centro de Investigación de Tecnologías Ambientales (CITVAS) de EP-PETROECUADOR, en el Cantón La Joya de los Sachas, Ciudad La Joya de los Sachas, provincia de Francisco de Orellana, Ecuador, con el fin de determinar la tasa de remoción de Cd, efectuada por la especie vegetal, para cada tratamiento, la misma que se presenta en la tabla 3.1, para lo cual se realizó un análisis comparativo entre los valores iniciales y finales de las concentraciones de Cd presentes en el suelo.

Tabla 3.1 Porcentaje de remoción de Cd del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) en los diferentes tratamientos (Musso, 2012).

[Cd] Tratamiento (ppm)	[Cd] Inicial de Suelo (ppm)	[Cd] Final de Suelo (ppm)	[Cd] Removido (ppm)	% Remoción de Cd
0	0	0	0	0
20	15,763	6,752	9,011	57,167
40	33,342	11,218	22,124	66,355
60	55,130	11,208	43,922	79,671

Así también la figura 3.1 permite representar y visualizar desde el inicio el efecto positivo de la fitorremediación en cada uno de los tratamientos, en donde se logró una disminución de la concentración del metal pesado presente en el suelo al finalizar el proyecto.

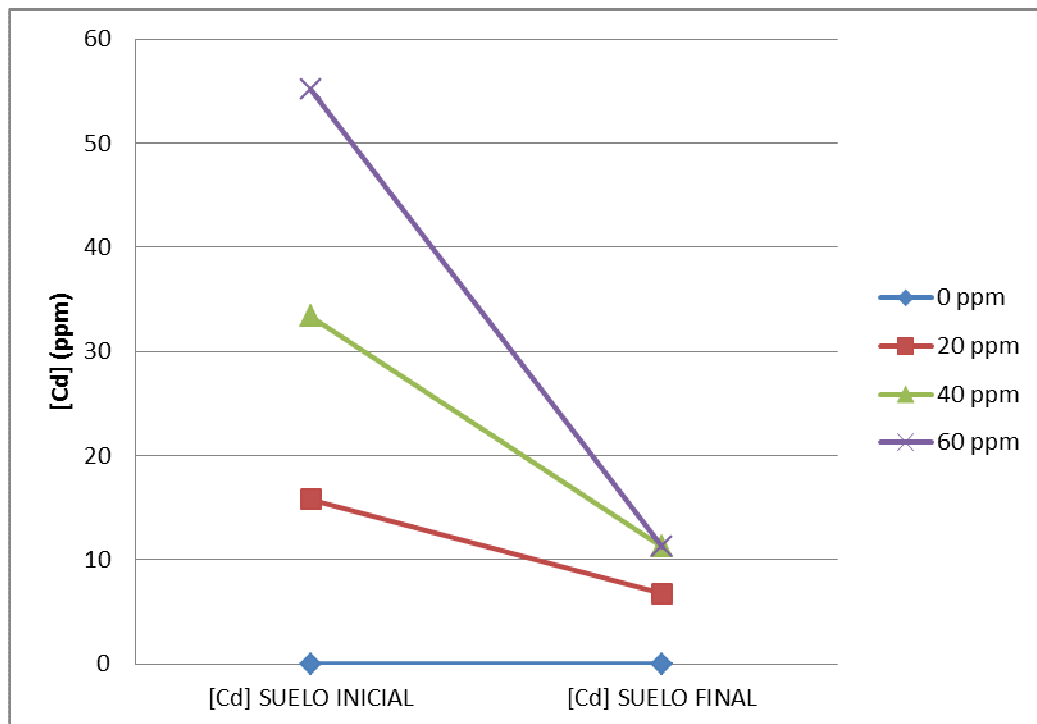


Figura 3.1 Curva de la remoción de Cd del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) por tratamiento (Musso, 2012).

Con el fin de determinar si existe una diferencia significativa de la remoción de Cd entre los diferentes tratamientos, se realizó un análisis de varianza y prueba de Tukey (Anexo A), que muestran valores de p menores a 0,05 por lo que es posible concluir que existe una diferencia significativa de la remoción de Cd con respecto al tiempo de exposición (0, 60 y 120 días), sin embargo para concentración de Cd utilizada solo los tratamientos de 20 y 40 ppm no son significativamente diferentes, como muestra la figura 3.2.

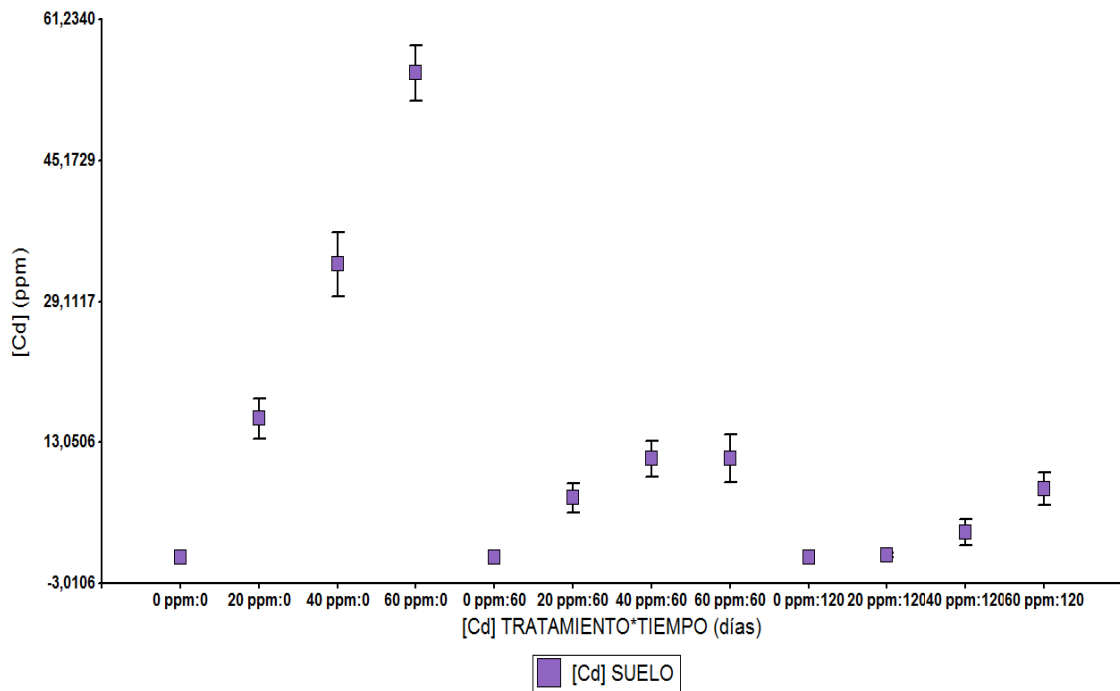


Figura 3.2 Gráfica de puntos de desviación estándar para la tasa de remoción por parte del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) (Musso, 2012).

Por otro lado, para determinar si la reducción de la concentración de Cd se produjo por acción de la presencia de la especie vegetal, se analizó la concentración de Cd en los tejidos vegetales (raíz y parte aérea) de los 30 individuos de estudio por tratamiento. Del total de la concentración de Cd hallados en el tejido vegetal, se elaboró una gráfica con los porcentajes presentes tanto en parte aérea como en la raíz de las plantas de camacho (Figura 3.3), y posterior al análisis de varianza (Anexo B) realizado se puede determinar que existe una diferencia significativa entre los resultados de la concentración de Cd en parte aérea y raíz. Las letras en mayúscula representan la categoría estadística a la que pertenece cada tratamiento, así si las medias de los tratamientos tienen una letra común no son significativamente diferentes (Prueba de Tukey, Anexo B). Para este caso todos los tratamientos son significativamente diferentes.

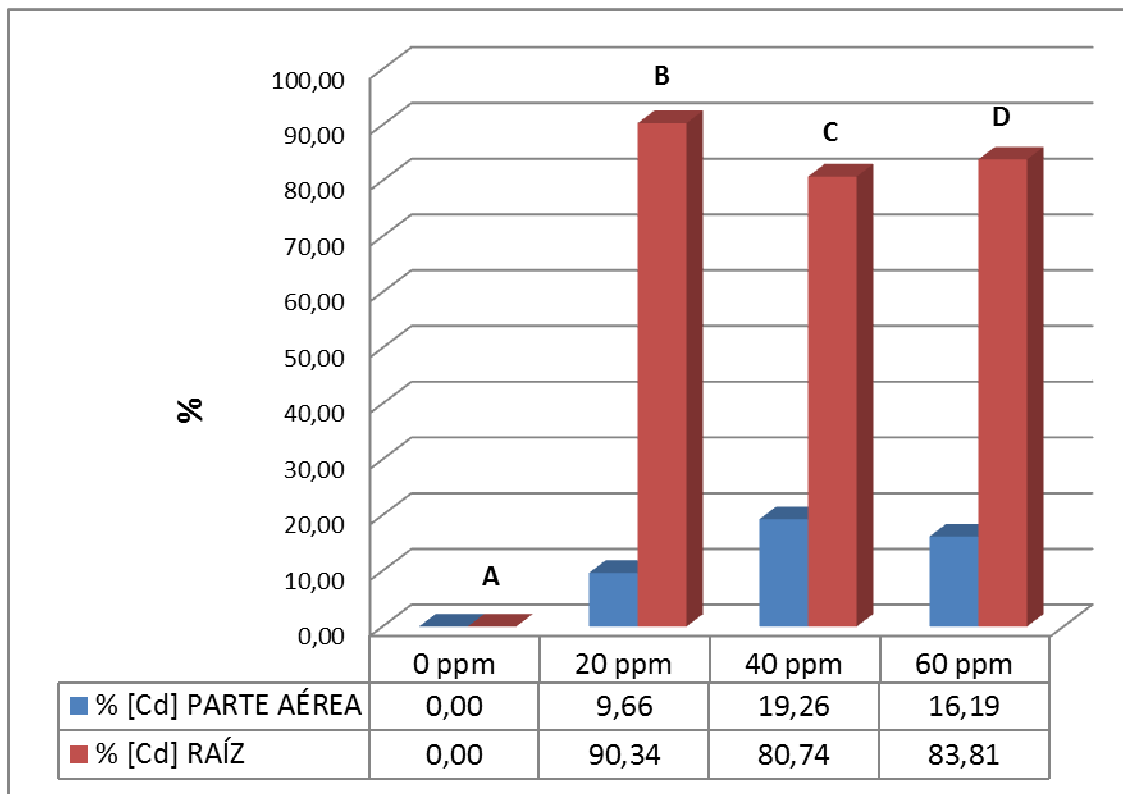


Figura 3.3 Porcentaje de la concentración de Cd presentes en parte aérea y raíz de plantas de camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) (Musó, 2012).

Otro resultado relevante en la investigación fue ver como se da la absorción del Cd en la especie vegetal conforme pasa el tiempo, para lo cual se realizó una curva en donde se muestra el comportamiento del camacho en su absorción del metal pesado tanto en la parte aérea (Figura 3.4) como en su raíz (Figura 3.5).

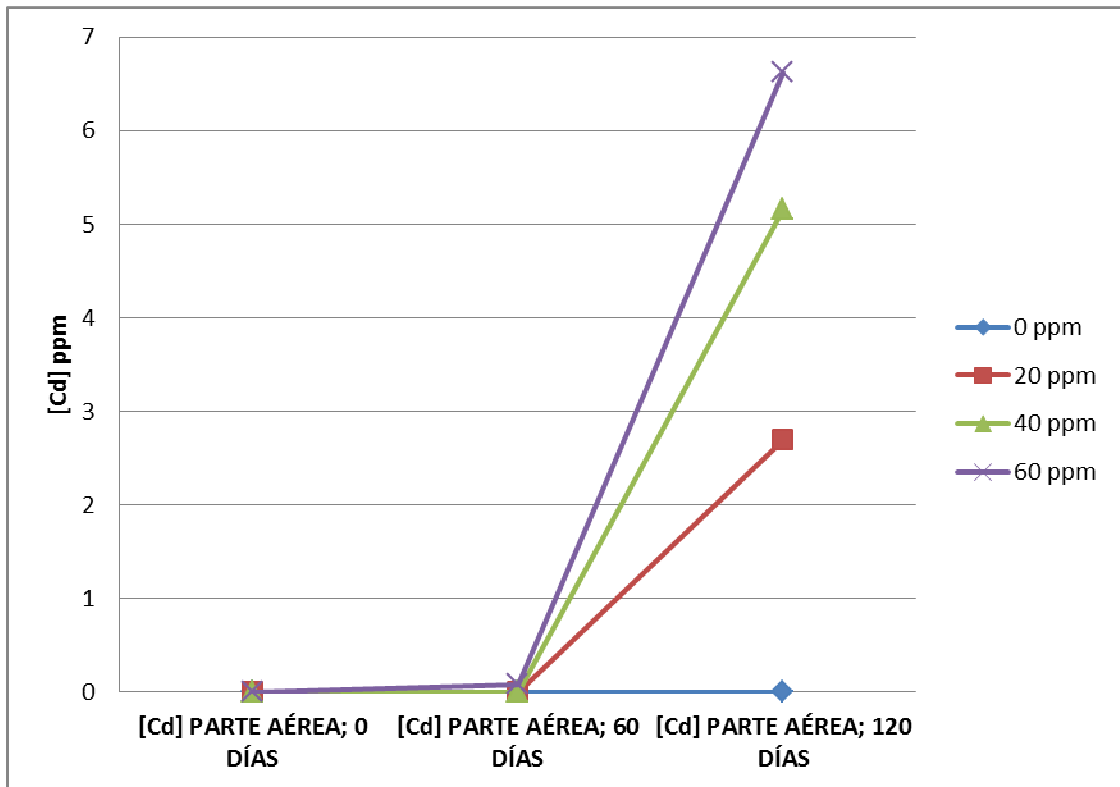


Figura 3.4 Acumulación de Cd en la parte aérea del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) con respecto al tiempo (Musso, 2012).

En la figura es posible apreciar claramente que no existe una acumulación hasta los 60 días de exposición al metal pesado en ninguno de los tratamientos, sin embargo es claro el aumento de la acumulación al finalizar el estudio (120 días de exposición).

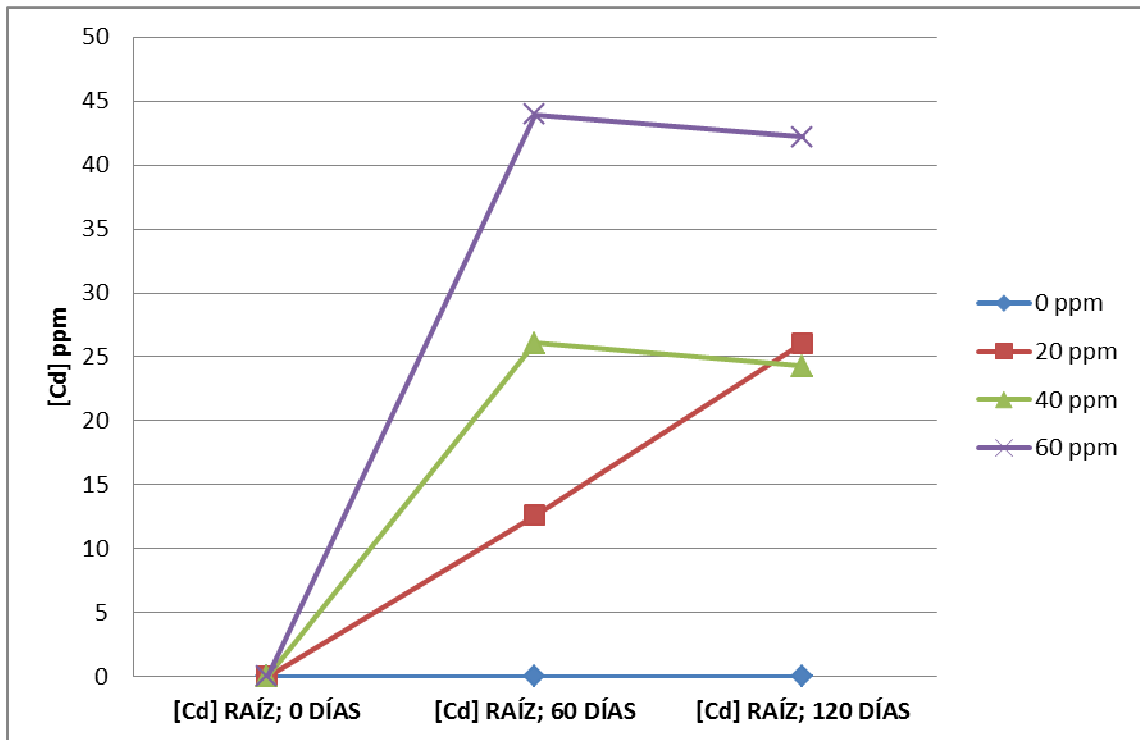


Figura 3.5 Acumulación de Cd en la raíz del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) con respecto al tiempo (Musu, 2012).

Así también es notorio, según la figura, la tendencia creciente que tiene la acumulación de cadmio en la raíz de las plantas según transcurre el tiempo, en donde ya existe acumulación de Cd a los 60 días (segunda medición), lo que no ocurrió en la parte aérea. Se aprecia también una disminución de la acumulación de Cd a los 120 días de exposición en los tratamientos de 40 y 60 ppm.

3.1.2. Análisis de clorofila y carotenoides de la especie vegetal

Se realizó una comparación entre los datos de clorofila a, clorofila b y carotenoides del testigo (0 ppm de Cd) y los datos de los otros tratamientos (20, 40 y 60 ppm) tanto de los análisis iniciales como de los finales. Los resultados de los datos iniciales se muestran en la figura 3.6 y los resultados finales en la figura 3.7 donde es posible apreciar que no existen diferencias significativas entre los datos del testigo y los de los tratamientos ni al inicio ni al

final de la investigación. Los análisis de varianza y pruebas de Tukey que sustentan dichos resultados se muestran en el Anexo C.

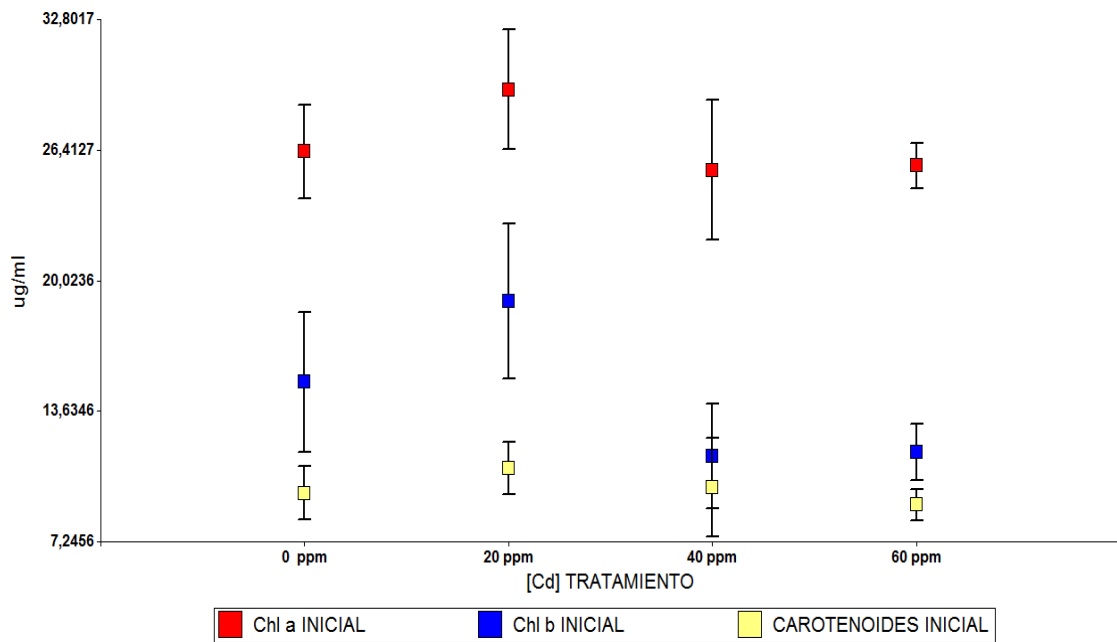


Figura 3.6 Gráfica de puntos de desviación estándar para los valores de clorofila a, clorofila b y carotenoides al inicio del estudio en los extractos de camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) (Muso, 2012).

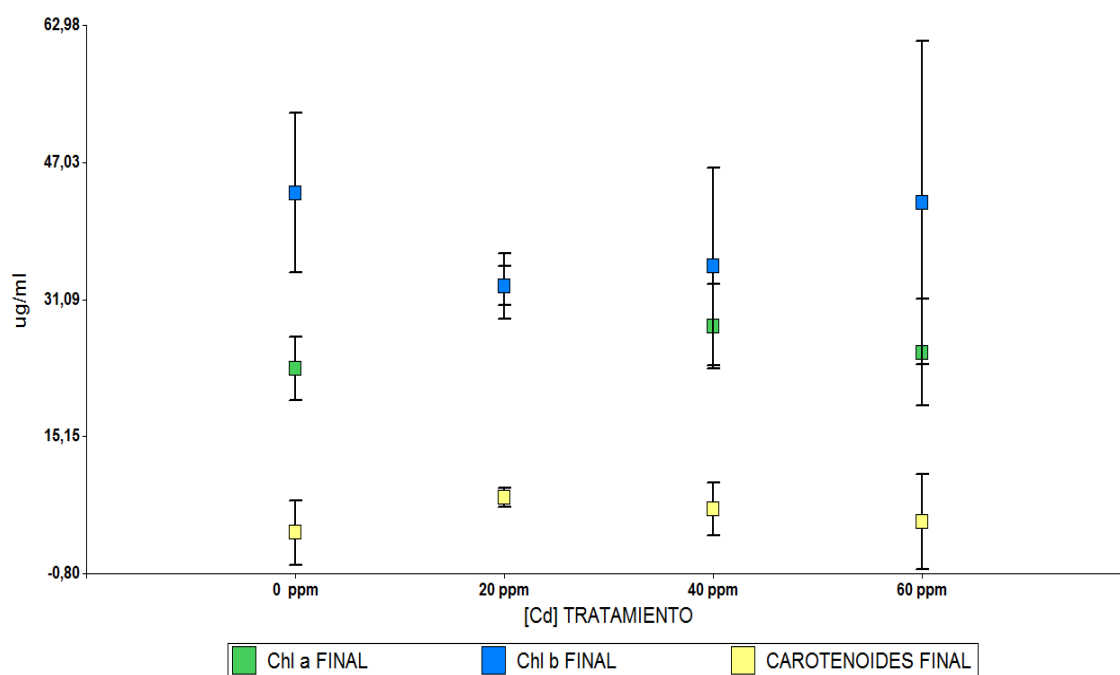


Figura 3.7 Gráfica de puntos de desviación estándar para los valores de clorofila a, clorofila b y carotenoides al final del estudio en los extractos de camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) (Muso, 2012).

3.1.3. Análisis de la actividad antioxidante mediante la técnica del Radical libre DPPH (2,2-difenil,1-picrilhidracilo)

Así también se realizó una comparación entre los datos de la concentración de DPPH presentes en los individuos de los tratamientos de 20, 40 y 60 ppm con la concentración de DPPH del testigo (0 ppm), tanto al inicio del proyecto como al finalizar el mismo (Figura 3.8). Los resultados del análisis de varianza y de la prueba de Tukey, muestran que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos y el testigo ni al inicio ni al final de la investigación (Anexo D).

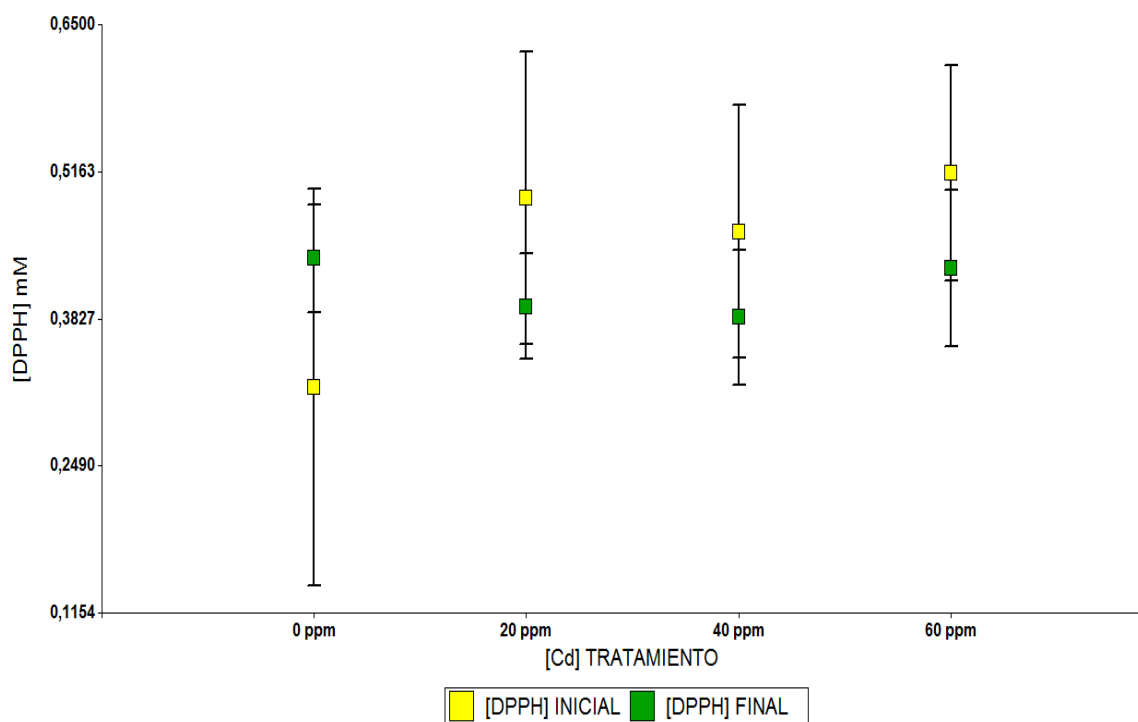


Figura 3.8 Gráfica de puntos de desviación estándar para la [DPPH] al inicio y al término del estudio en los extractos de camacho (*Xanthosoma undipes* Koch) (Muso, 2012).

Se considera importante la determinación del porcentaje de la actividad estabilizadora de radicales libres (actividad antioxidante) del camacho para cada uno de los tratamientos, para lo cual se utilizó el valor de la concentración de DPPH de la solución madre y los de las muestras calculadas después de los 30 minutos de reacción como se mencionó en el apartado 2.5.1.6. El cuadro a continuación muestra los valores del porcentaje de la actividad antioxidante de las plantas de cada tratamiento así como las concentraciones de DPPH de los mismos. Las figuras 3.9 y 3.10 muestran de manera gráfica los resultados antes mencionados.

Tabla 3.2 Valores de la [DPPH] y del porcentaje de actividad estabilizadora de radicales libres (AERL) al inicio y al final del estudio (Musso, 2012).

[Cd] Tratamiento	[DPPH] Inicial (mM)	%AERL Inicial	[DPPH] Final (mM)	%AERL Final
0 ppm	0,4003	51,882	0,4376	56,6289
20 ppm	0,4925	40,800	0,3936	52,6897
40 ppm	0,4616	44,521	0,3838	53,8744
60 ppm	0,5146	38,552	0,4287	48,4751

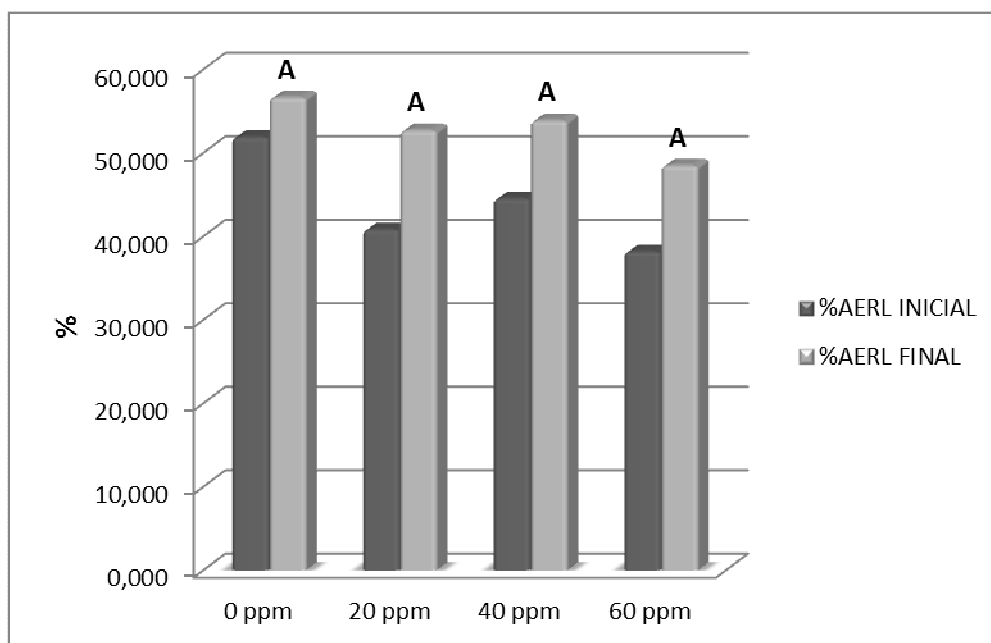


Figura 3.9 Gráfico de barras del porcentaje de AERL inicial y final (Musso, 2012).

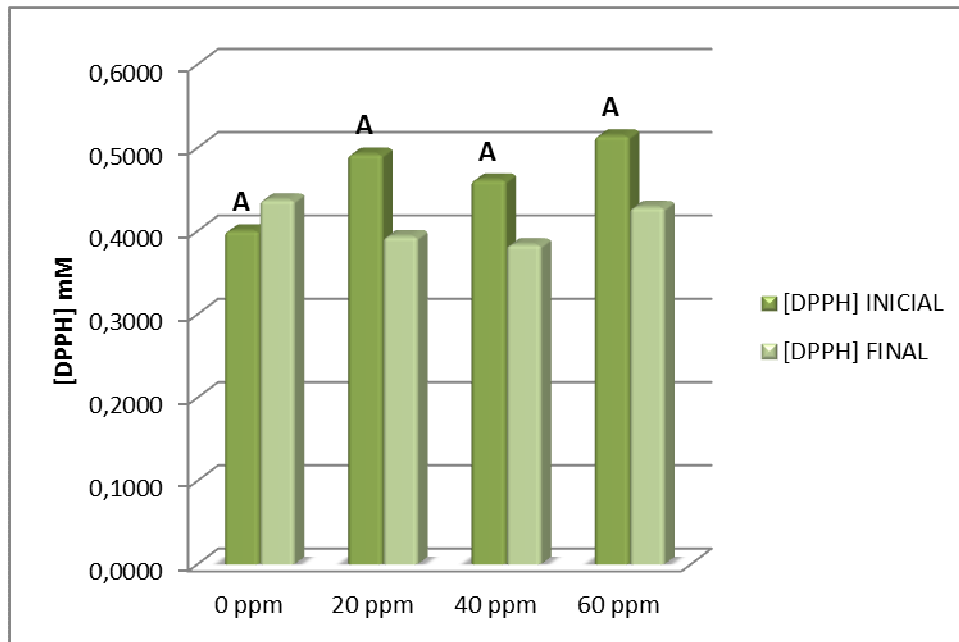


Figura 3.10 Gráfico de barras del porcentaje de la [DPPH] inicial y final (Musu, 2012).

Las letras en mayúsculas representan la categoría estadística a la que pertenece cada tratamiento (Prueba de Tukey, Anexo D), así para las dos figuras anteriores, los tratamientos no son significativamente diferentes (letras iguales).

3.1.4. Datos Fisiológicos

Se realizaron análisis de varianza y pruebas de Tukey para los datos de altura, masa vegetal total, masa de parte aérea y masa de raíz de cada uno de los tratamientos y tiempos de exposición (Anexo E). Los resultados muestran, principalmente, que no existen diferencias significativas entre los valores de masa vegetal total, masa de parte aérea y masa de raíz para ninguno de los tratamientos ni tiempos de exposición. Por otro lado se detectaron diferencias significativas en los valores de altura respecto a los tiempos de exposición ($p < 0,05$) pero no para las alturas respecto a los tratamientos ($p = 0,0806$).

El cuadro a continuación muestra los promedios de los valores de altura, masa vegetal total, masa de parte aérea y masa de raíz para cada uno de los tratamientos y tiempos de exposición:

Tabla 3.3 Promedios de los valores de altura, masa vegetal total, masa de parte aérea y masa de raíz para cada uno de los tratamientos y tiempos de exposición (Muso, 2012).

[Cd] Tratamiento	Tiempo de exposición	Altura (cm)	Masa Vegetal Total (g)	Masa Parte Aérea (g)	Masa Raíz (g)
0 ppm	60 días	16,3	51	12,3	38,7
	120 días	25,4	73,4	20	53,4
20 ppm	60 días	20,4	78,3	20,3	58
	120 días	23,3	61,4	15,3	46,1
40 ppm	60 días	17,8	86,4	17,5	68,9
	120 días	20,8	77,9	18,5	59,4
60 ppm	60 días	18,8	71,9	14,8	57,1
	120 días	22,5	74,2	20,9	53,3

3.2. Segunda etapa de la investigación: Ensayo en campo con especies vegetales con potencial fitorremediador

3.2.1. Elaboración de la plataforma para el ensayo de fitorremediación

Después de seguir la metodología propuesta en el apartado 2.5.2.1 se llegó a obtener una plataforma lista para la ejecución del ensayo y de las características que se muestran en la figura 3.11.

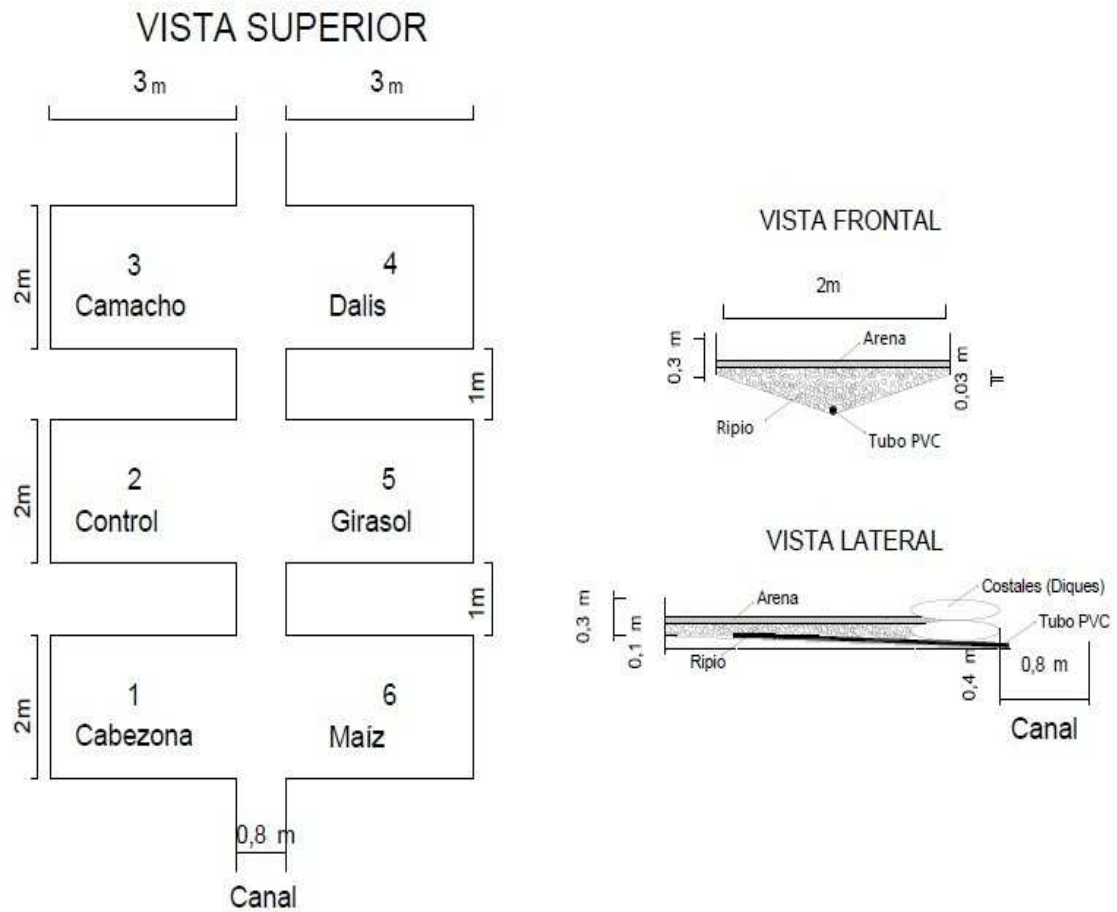


Figura 3.11 Dimensiones y características de la plataforma de fitorremediación (Muso, 2012).

3.2.2. Tasa de remoción de cadmio por parte de cada una de las especies utilizadas en la plataforma de fitorremediación

Al finalizar el tiempo de exposición de las cinco especies vegetales al metal pesado (90 días), se obtuvieron los siguientes datos de su porcentaje de adaptación:

Tabla 3.4 Datos de la presencia de plantas de cada una de las especies vegetales en estudio (Musso, 2012).

Especie vegetal	Proceso de siembra	Número de plantas iniciales	Número de plantas después de los 90 días	% de Adaptación
Camacho	Trasplante	25	16	60
Cabezona	Trasplante	35	35	100
Dalis	Germinación	Voleo	0	0
Girasol	Germinación	25	1	4
Maíz	Germinación	25	25	100

Cabe recalcar que las 15 plantas de camacho no presentaban las condiciones más óptimas deseadas, ya que después de los 90 días de exposición al metal pesado, no existió crecimiento ni formación de nuevos brotes y además se pudo apreciar signos de marchitamiento en alguna de sus hojas (Anexo F). Las fotografías de las otras cuatro especies se muestran también en el Anexo F.

Para la determinación de la tasa de remoción del metal pesado del suelo, se realizaron 10 análisis de Cd de cada una de las especies en estudio, tanto de suelo, parte aérea y raíz. La tasa de remoción de Cd por parte de cada una de las especies vegetales se muestra en el cuadro 3.5 y gráficamente en la figura 3.12, siendo el maíz la especie que presenta un porcentaje de remoción de Cd mayor a las demás (59,879%).

Tabla 3.5 Porcentaje de remoción de Cd de las especies vegetales en la plataforma de fitorremediación (Muso, 2012).

Especie	[Cd] Inicial de Suelo	[Cd] Final de Suelo	[Cd] Removido	% Remoción de Cd
Camacho	15,957	7,153	8,803	55,170
Cabezona	14,065	7,563	6,502	46,226
Maíz	16,288	6,535	9,753	59,879

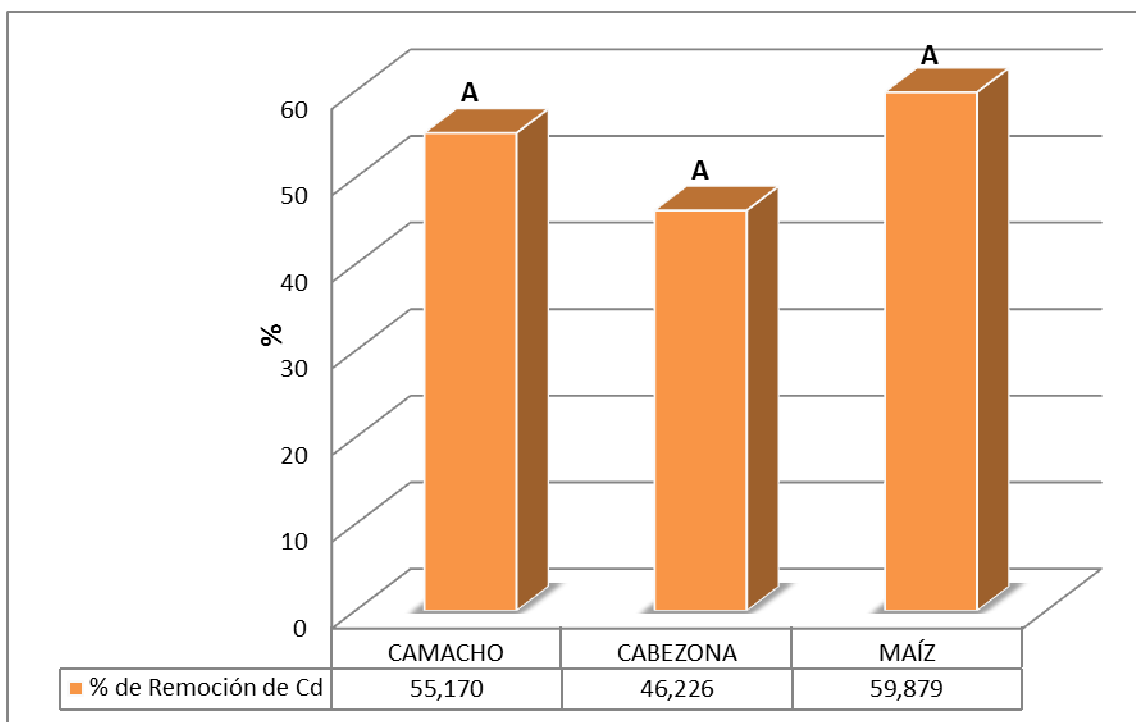


Figura 3.12 Porcentaje de la remoción de Cd de las especies estudiadas en la plataforma de fitorremediación (Muso, 2012).

Los análisis de la presencia de Cd en la parte aérea y en la raíz de las especies vegetales en estudio, se presentan en la figura 3.13, donde se muestra el porcentaje de acumulación del metal pesado en la raíz y en la parte aérea de cada una de las especies, siendo el maíz la especie que presenta la mayor acumulación en la raíz con un 94,10% y el camacho en la parte aérea con un 20,10 %.

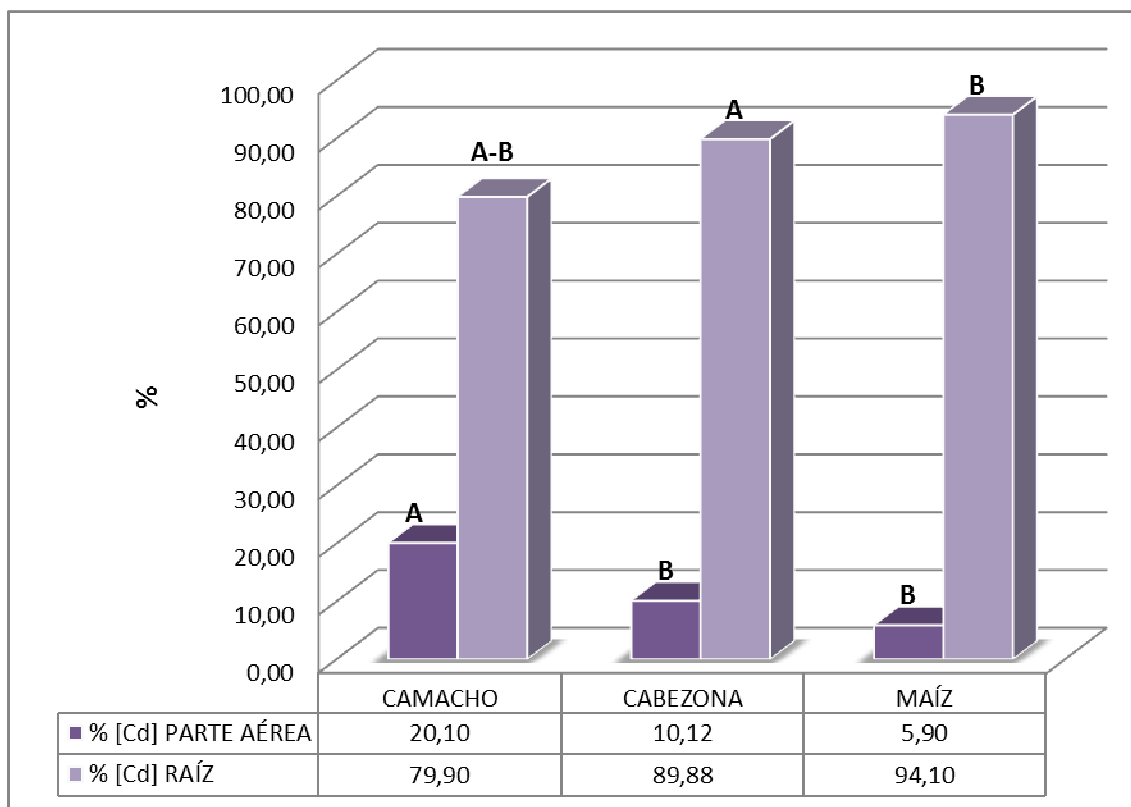


Figura 3.13 Porcentaje de la concentración de Cd presentes en parte aérea y raíz de especies vegetales utilizadas en la plataforma de fitorremediación (Muso, 2012).

En las figuras 3.12 y 3.13, las letras mayúsculas muestran las categorías estadísticas de los datos. Para la primera figura, no existen diferencias significativas (letras iguales) y en el caso de la segunda figura, letras diferentes muestran diferencias significativas estadísticamente.

Se realizó también un análisis de varianza de la concentración de Cd presente en la parte aérea y raíz de las especies vegetales y se comparó las especies mediante un análisis DHS de Tukey (Anexo G), con el cual se pudo determinar que no existe diferencia significativa entre los datos de la concentración de Cd presente en parte aérea de la cabezona y el maíz pero el camacho sí es significativamente diferente respecto a las otras dos especies. Por otro lado sí existe una diferencia significativa entre las concentraciones de Cd presentes en la raíz de la cabezona y el maíz, pero los datos del camacho no son significativamente diferentes a los de las otras dos especies (Figura 3.14).

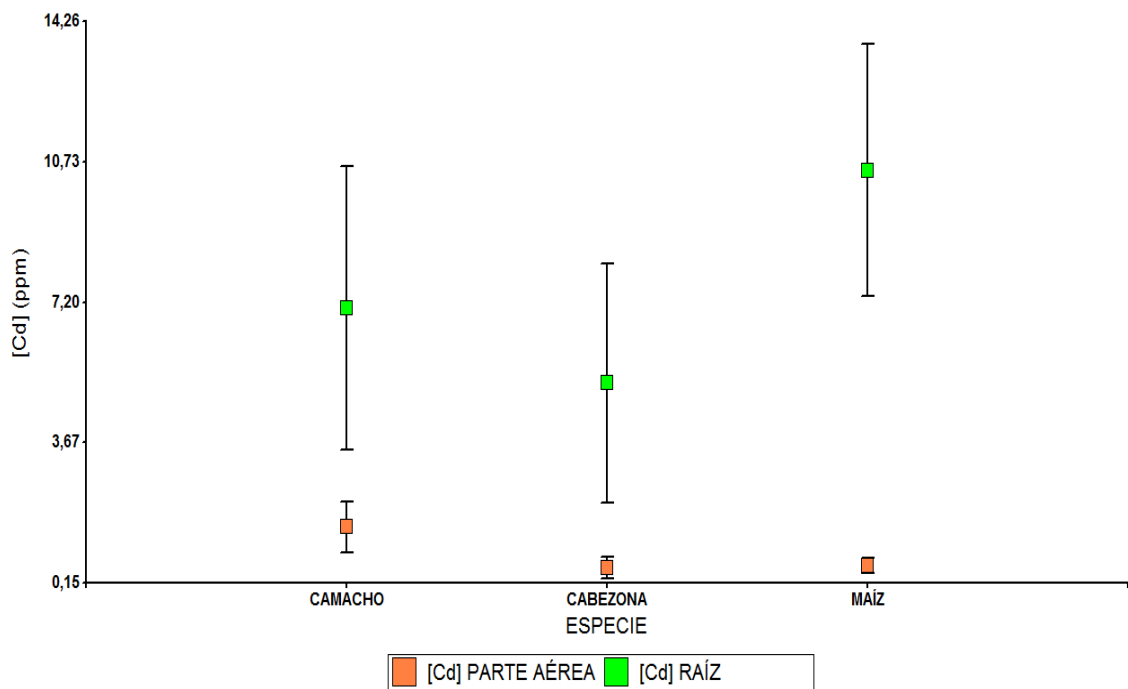


Figura 3.14 Gráfico de puntos de la desviación estándar de la concentración de Cd presente en la parte aérea y raíz de las especies vegetales (Muso, 2012).

Gracias al análisis de varianza y la prueba Tukey de la concentración de Cd presente en el suelo al iniciar y finalizar el proyecto (Anexo H), se pudo determinar que no existen diferencias significativas entre los datos de [Cd] del suelo presentes en los cubetos pertenecientes a las diferentes especies vegetales en estudio y por ende entre su tasa de remoción, como muestra la figura 3.15.

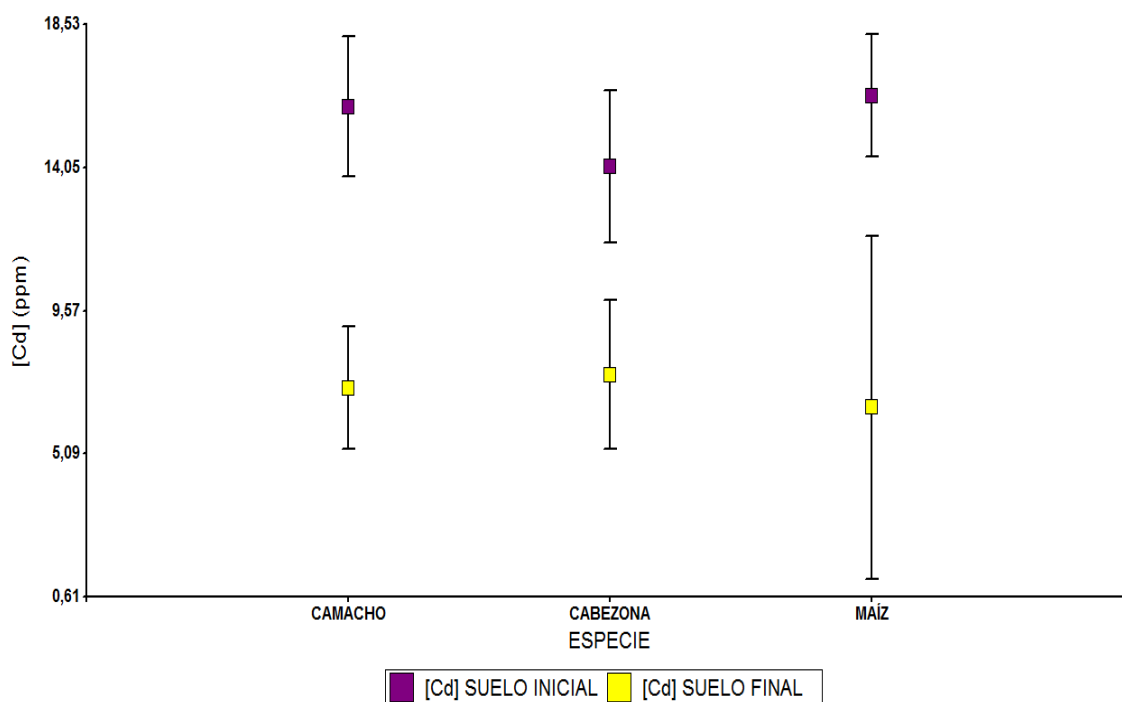


Figura 3.15 Gráfico de puntos de la desviación estándar de la concentración de Cd presente en el suelo al inicio y al fin del estudio (Musó, 2012).

Finalmente cabe recalcar el comportamiento de la única planta de girasol en la remediación del suelo contaminado con el metal pesado. Los datos de su acumulación en sus tejidos vegetales se recopilan en el cuadro siguiente:

Tabla 3.6 Características del comportamiento del girasol en la remoción de Cd de suelo presente en la plataforma de fitorremediación (Musó, 2012).

% Remoción de Cd	[Cd] Parte Aérea	[Cd] Flor	[Cd] Raíz
64,575	6,78	0,85	4,61

La importancia de este resultado radica en que de las cuatro especies en estudio de la plataforma de fitorremediación (camacho, cabezona, maíz y girasol), este último es el que logró la mayor acumulación de Cd en su parte aérea (6,78 ppm) con respecto a las demás especies vegetales. Sin embargo cabe recalcar que este resultado no es representativo estadísticamente ya que solo se midió una planta de girasol.

4. DISCUSIÓN

En los últimos años, muchas investigaciones han ido encaminadas a tratar de recuperar los suelos contaminados en lugar de destruirlos. En la actualidad se dispone de un amplio abanico de tecnologías de recuperación de suelos contaminados, algunas de aplicación habitual y otras todavía en fase experimental, diseñadas para aislar o destruir las sustancias contaminantes alterando su estructura química mediante procesos generalmente químicos, térmicos o biológicos (Ortiz *et al.*, 2007). La presente investigación se ha centrado en una tecnología biológica que está tomando cada vez más fuerza y se la está utilizando como una alternativa económica, fácil y sobretodo amigable con el ambiente: la fitorremediación, la misma que logra recuperar el suelo a través de la actividad biológica natural de las plantas.

En primer lugar, es necesario identificar, según los resultados, el tipo de proceso fitorremediador que se efectuó en el presente estudio. Según, Alkorta *et al.*, (2004), las tecnologías principales para la fitorremediación de metales son la fitoextracción que se define como el uso de plantas para extraer los metales del suelo, trasportarlos y acumularlos en los órganos de la parte aérea y la fitoestabilización que es el uso de especies vegetales para minimizar la movilidad de los metales mediante su acumulación en la raíz o su precipitación en la rizósfera.

De acuerdo a lo antes mencionado, es posible determinar que en la presente investigación se han dado los dos fenómenos; la fitoextracción, ya que a partir del segundo mes de exposición al metal pesado, las plantas de camacho empezaron a trasportar el Cd hacia sus órganos de la parte aérea llegando a acumular hasta el 19,6% del total de Cd presente en la planta y la fitoestabilización, que fue el proceso que se presentó mayoritariamente hasta la finalización del proyecto, ya que las plantas, en contraste con su acumulación en la parte aérea, presentaron un porcentaje de hasta el 90,34% de

acumulación de Cd en sus raíces (Figura 3.3). No obstante, es difícil asegurar que la fitoestabilización es el proceso por el cual el camacho remedia los suelos con Cd, ya que posiblemente esta especie vegetal requiera más tiempo del empleado en esta investigación para transportar el metal pesado en mayor grado hacia su parte aérea (Alkorta *et al.*, 2004).

Esta gran diferencia entre los dos procesos que gobiernan la recuperación de suelos contaminados por Cd por la acción del camacho, se da principalmente por la facilidad que tiene la raíz para absorber el metal pesado en comparación con el transporte del Cd hacia los órganos de la parte aérea de la especie vegetal. Como primer punto, para justificar aquello, la raíz constituye el tejido de entrada principal de metales pesados en la planta, los mismos que pueden llegar hasta ella, fundamentalmente, por un proceso de difusión en el medio, flujo masivo y/o por intercambio catiónico. Además, la raíz posee cargas negativas en sus células, debido mayormente a la presencia de grupos carboxilo del ácido péctico, estas cargas negativas de las células de la rizodermis interaccionan con las positivas de los metales pesados presentes en el suelo, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular (Marmioli *et al.*, 2005). De esta forma, los cationes entran por la pared celular, que además es hidrofílica, lo que facilita el transporte iónico. Una vez unidas las cargas positivas a las negativas de la pared celular, los metales pesados se transportan, en parte por la vía apoplástica, y en parte por la simplástica. Otro mecanismo que facilita la biodisponibilidad de los metales son los exudados de la raíz que son compuestos orgánicos de bajo y de alto peso molecular. Los primeros se liberan a favor de gradiente de concentración, y los segundos se liberan por mecanismos de transporte activo o por lisis celular. La exudación de mucílagos, por ejemplo, forma una capa externa a la raíz (mucigel) que favorece la complejación de Cd, Cu y Pb (Navarro Aviñó *et al.*, 2007). Como es evidente existen múltiples mecanismos para el ingreso de metales pesados a la biomasa de la raíz de la especie vegetal, lo que facilita el proceso de fitoestabilización.

Por otro lado los iones inorgánicos y el agua, que conforman la savia bruta, se transportan desde la raíz hasta las hojas mediante una serie de células tubulares que pertenecen a un tejido leñoso (xilema). La fuerza que mueve esta solución no radica en las células del tejido xilemático, sino en la fuerza propia del proceso de ósmosis y en otra fuerza, menos habitual, conocida como fuerza de succión. La ósmosis se produce porque existe una gran diferencia de concentración entre la parte superior de la planta (hojas, inflorescencias) donde es mayor y la parte inferior, es decir existe un potencial hídrico favorable al impulso ascendente. La fuerza de succión se produce cuando en las hojas se pierde agua por transpiración, pues las moléculas perdidas producen una succión de nuevas moléculas cercanas para reemplazar a las anteriores, de tal manera que se produce una fuerza que atrae agua desde las raíces hacia las hojas (Navarro Aviñó *et al.*, 2007). Así es evidente que para el transporte de metales pesados hacia la parte aérea (fitoextracción) existe solo una ruta, el xilema, a diferencia de las múltiples formas de ingreso de metales pesados a la raíz, y que a más de eso se requieren dos fuerzas para que esto ocurra, ósmosis y fuerza de succión, las cuales no dependen propiamente de la planta ni del suelo sino de la presión osmótica y de las pérdidas de agua respectivamente. Todo lo antes mencionado hace coherente que el camacho y en general todas las especies vegetales en estudio hayan tardado por lo menos 60 días en empezar a translocar el metal pesado hacia la biomasa de sus partes aéreas.

En relación a todo lo antes dicho, en la figura 3.5, se muestra una disminución de la acumulación de Cd en la raíz a partir de los 60 días hasta finalizar los 120 días de exposición en los tratamientos de 40 y 60 ppm, la cual se dio por la translocación del metal pesado de la raíz a la parte aérea disminuyendo así su concentración de cadmio en la raíz.

El resultado más relevante de la investigación es el porcentaje de remoción de Cd principalmente del camacho y de las otras especies vegetales utilizadas en el estudio. Así, al hablar del camacho, en la primera etapa de investigación realizada en vivero, se obtuvo un porcentaje de remoción de

hasta el 79,67%, y para la segunda etapa, realizada en campo, esta especie vegetal presenta una tasa de remoción del 55,17 %. Esta diferencia, es posible que se deba principalmente a que el éxito de la fitorremediación, y por ende su efectividad, dependen primero de la adecuada selección de la especie vegetal para recuperar un suelo determinado y segundo, pero de vital importancia, de la correcta selección de enmiendas (materia orgánica, agentes quelantes, cal, etc.) que permitan mejorar las propiedades del suelo, así como también del control de condiciones adecuadas de riego, temperatura y otras que fomenten la supervivencia y el crecimiento de las plantas (Clemente *et al.*, 2005). De acuerdo a esto, es claro que la tasa de remoción fue mayor en vivero que la presentada en la plataforma, debido a que, por obvias razones, en el ensayo realizado en el vivero, fue posible mantener condiciones de riego regulares y gracias a la infraestructura del mismo, la temperatura y humedad del lugar se mantenían en un rango constante. Además cabe recalcar que el sustrato utilizado para las plantas del ensayo en vivero contenía abono orgánico, fibra de palma y arena en las proporciones ya señaladas, a diferencia del sustrato empleado en la plataforma que solo fue suelo.

Otro aspecto importante, es determinar qué tipo de planta fitorremediadora es el camacho, de acuerdo a sus características. Según Baker (1981), existen tres diferentes tipos de especies vegetales dentro de la fitorremediación: las que toleran las elevadas concentraciones de metales en el suelo porque restringen su absorción y/o translocación hacia las hojas, permitiéndoles mantener concentraciones constantes y relativamente bajas en la biomasa aérea independientemente de la concentración metálica del suelo, llamadas exclusivas; las segundas que absorben los metales activamente a partir del suelo y los acumulan en formas no tóxicas en su biomasa aérea denominadas acumuladoras y finalmente las indicadoras, que presentan una respuesta intermedia, cuya concentración metálica refleja la del suelo (Baker, 1981). Brooks *et al.* (1977a) definió, el término “hiperacumuladora”, para plantas desarrolladas en campo capaces de acumular concentraciones de metales en hojas entre 10 y 100 veces las concentraciones “normales”, incluso cuando la concentración de los metales en suelo es muy baja. Su

concentración final en los tejidos aéreos depende del metal y de la especie, llegando a superar el 2% de su peso seco (Brooks; 1998). La especies más comunes son las hiperacumuladoras de Ni siendo más escasas las de Co, Cu, Zn, Cr, Pb y Cd. Para el caso del Cd se utiliza el término hiperacumuladora para designar plantas que acumulan más de 100 mg de Cd/kg de biomasa aérea (Chaney *et al.*, 2000).

En función de lo antes mencionado es posible definir al camacho y al resto de plantas utilizadas en este estudio como plantas acumuladoras. Sin embargo, no se pueden considerar como plantas hiperacumuladoras ya que la concentración del metal pesado en la biomasa de sus órganos aéreos, no sobrepasa, en el ensayo en vivero para ningún tratamiento, los 10,16 mg de Cd/kg de biomasa y en el ensayo de la plataforma de fitorremediación no excede los 2,4 mg de Cd/kg para el camacho, 0,96 mg de Cd/kg para la cebazona, 0,9 mg de Cd/kg para el maíz y 7,63 mg de Cd/kg para el girasol. En contraste con lo ocurrido en la parte aérea de las plantas en estudio, sus raíces pueden ser consideradas indicadoras, ya que gracias a la comparación de los resultados de Cd en suelo y planta, se pudo comprobar que los valores de acumulación del metal pesado en los tejidos de las raíces tuvieron una relación directa con la cantidad del metal pesado que existió en el suelo, así por ejemplo existió una mayor acumulación de Cd en las plantas pertenecientes al tratamiento de 60 ppm que en los de 40 y 20. Dicha acumulación reflejó siempre la cantidad de Cd presente en el suelo y lo mismo ocurrió en el ensayo de la plataforma para las otras tres especies vegetales (maíz, cabezona y girasol).

En cuanto se refiere a la tasa de remoción del resto de las especies vegetales utilizadas en la plataforma de fitorremediación, se presentaron valores de 46,23% para la cabezona y 59,88% para el maíz, este último superando la tasa de remoción por parte del camacho (55,17%), constituyéndose en otra alternativa interesante para el tratamiento de suelos contaminados con Cd en el Distrito Amazónico con una especie no nativa ni endémica.

Como se ha mencionado en varias ocasiones en este estudio, la capacidad fitorremediadora de las especies vegetales depende no solo de la planta y su genética sino de las características del suelo que se quiere recuperar. Por esto, la justificación de la alta tasa de recuperación de suelos contaminados con Cd por parte del maíz, se debe a que cuando este cultivo crece en un suelo típicamente arcilloso, como el del Oriente ecuatoriano, su capacidad asimilativa de metales pesados como el Cd, Ni, Pb y Cu supera el límite de absorción en comparación con otros tipos de suelo, marcando así una diferencia en la acumulación del metal pesado respecto a otros cultivos (Mahdy *et al.*, 2007).

También es relevante citar las causas por las cuales el pasto dalis y el girasol no germinaron como se esperaba, para ello, es necesario describir las características de la topografía del cantón Joya de los Sachas que en general es regular, de tierra firme y está formada por una zona plana, con suelos arcillosos de textura delgada y características ferruginosas. Su altitud no sobrepasa los 270 m.s.n.m. y posee precipitaciones desde 2650 a 4500 mm anuales siendo el período de mayo a noviembre donde existe más frecuencia de lluvias. Su clima es muy húmedo tropical, con brisas constantes, intensa evaporación y altas temperaturas con nubosidad media de 6 octavos y su temperatura normal es de 28°C, con mínimas de 18°C y máximas de 34°C (Provincia de Orellana, 2011).

En cuanto se refiere al pasto dalis, este se comporta bien en zonas localizadas desde el nivel del mar hasta los 2200 msnm con temperaturas de 20 a 25°C y precipitación de 1000 a 4000 mm/año, persiste en suelos rojos, ácidos y de baja fertilidad, resiste a la sequía no muy prolongada y a la quema. En nuestro medio se lo encuentra distribuido en las Provincias de Napo, Sucumbíos y Orellana, zonas que van desde los 250 a 300 msnm, y en Morona Santiago y Pastaza que están ubicadas a 800 y 950 msnm (Gélvez, 2009). Todas estas particularidades hacen pensar que el ambiente, clima y suelo eran los óptimos para la correcta germinación y desarrollo de *Brachiaria decumbens*

(dalis), además se aseguró el uso de semilla certificada. Así el único factor que influyó en la no germinación del pasto pudo ser que el drenaje del suelo utilizado en la plataforma de fitorremediación no fue suficiente para esta especie vegetal, ya que según Gélvez (2009), dalis crece y germina en suelos bien drenados.

En el caso del girasol, se sabe que es una especie vegetal cuya germinación de su semilla depende mucho de la temperatura, siendo la óptima cercana a los 26°C, con temperaturas máximas de 40°C y mínimas entre 3 y 6°C. El cultivo no es muy exigente con relación a los suelos, ya que tolera tanto los de textura franco-arenosa, de fertilidad media, como los de textura arcillo-arenosa, con buen drenaje y pH entre 6 y 7. El girasol tolera prolongados períodos de sequía y para desarrollarse requiere de unos 400 a 450 mm/año de lluvia durante su ciclo vegetativo que posee un rango de duración de 100 a 150 días. Lo más conveniente es que la mayor parte de la precipitación ocurra desde la siembra hasta la floración, la cual se inicia generalmente entre los 40 a 55 días después de la siembra. Sin embargo, lluvias excesivas durante este período pueden afectar la fecundación. Durante la madurez fisiológica del cultivo es conveniente un período seco para evitar la incidencia de enfermedades (Dimitri, 1998).

Las precipitaciones, vienen de la mano con la humedad que actúa sobre la imbibición de la semilla. Al aumentar la humedad la amplitud térmica es menor y el oxígeno se difunde más lentamente. Es así, que la semilla de girasol en este medio con exceso de humedad no germinó presentando solo un 4% de adaptación al suelo de la plataforma de fitorremediación, ya que en el cantón Joya de los Sachas las precipitaciones van desde los 2650 a 4500 mm/año, como ya se mencionó, lo cual supera por mucho la tolerancia del girasol. La calidad de la semilla (viabilidad, poder germinativo, vigor de plántula) es otro factor importante, sin embargo, al igual que dalis, se eligió semilla certificada para la ejecución del ensayo, por lo tanto este factor no influyó en la no germinación del girasol (Dimitri, 1998).

En este punto cabe destacar el comportamiento del girasol, ya que gracias a los resultados, fue posible evidenciar que esta especie fue la que translocó más Cd a los órganos de su parte aérea, 6,78 ppm en sus hojas y tallos y 0,85 ppm en sus flores, llegando a acumular incluso más Cd en estos órganos que en su raíz (4,61 ppm) y sobrepasando por mucho a la acumulación del metal pesado en la parte aérea presentada por las otras tres especies después de los 90 días de exposición. Sin embargo este resultado es bastante impreciso, ya que una sola planta y un solo análisis no constituyen una muestra representativa para validar estos resultados y harían falta muchos más análisis para corroborar dicho efecto.

Finalmente y como se habló anteriormente los metales pesados tienden a unirse con diversas clases de ligandos, siendo el resultado de estas uniones ligando-metal muy perjudiciales para la célula, produciendo principalmente los siguientes fenómenos: la acción genérica sobre proteínas por inhibición de la actividad o por disrupción en la estructura de las mismas; el desplazamiento de elementos esenciales de su metabolismo estándar, produciendo efectos de deficiencia, y la catálisis de reacciones de generación de moléculas ROS (Especies Reactivas de Oxígeno) o radicales libres que provocan fenómenos de estrés oxidativo (Navarro Aviñó *et al.*, 2007).

A su vez, el estrés oxidativo puede provocar daño a distintos niveles, destacando los siguientes aspectos: inactivación de proteínas y enzimas, fundamentalmente por la oxidación de los grupos sulfidriilo, dando lugar a puentes disulfuro que causan la interrupción del funcionamiento normal de la proteína o enzima; peroxidación lipídica de membranas, causando rupturas y subproductos de las cadenas hidrocarbonadas y efectos de daño sobre el ADN como (mutaciones, aberraciones cromosómicas, alteraciones en la síntesis y reparación de ácidos nucleicos y transformaciones celulares) (Navarro Aviñó *et al.*, 2007).

Con este preámbulo, es importante mencionar que todos los análisis para determinar estrés oxidativo en la planta, fueron importantes para

determinar que las concentraciones de Cd a las cuales fueron sometidas las plantas de camacho (20, 40 y 60 ppm) no afectaron a las mismas, ya que para el análisis de clorofila, carotenoides y principalmente para el análisis de DPPH que permite detectar la presencia de ROS, no existieron diferencias significativas entre los valores de los análisis de las plantas de los tratamientos con Cd y los del testigo (0 ppm), lo cual muestra que no se evidencia estrés oxidativo, o al menos no por la presencia de Cd, ya que, obviamente, para que la presencia del Cd sea un factor de estrés para el camacho debieron haber diferencias entre los valores de las plantas expuestas a Cd y las plantas del testigo sin Cd. Según Brooks *et al.* (1977b), dentro de las plantas acumuladoras se han reconocido diferentes grados de acumulación metálica, desde pequeñas elevaciones sobre el nivel de fondo hasta concentraciones excepcionalmente elevadas de metales pesados como el Ni, Zn y Cd en su biomasa sin mostrar ningún síntoma visible de toxicidad, es más, algunas de estas plantas, no pueden completar sus ciclos vitales cuando crecen en suelos “normales”. Por estas razones y en vista de que el Camacho es una planta acumuladora, no mostró ningún signo de toxicidad visible, ya que no hubo diferencias significativas en lo que respecta a los valores de biomasa vegetal y altura, ni químico según lo mostrado con los análisis de DPPH, clorofila y carotenoides. A pesar de ello no es posible asegurar que no existe ningún tipo de daños en las plantas por la exposición de Cd, ya que para esto sería necesario realizar otro tipo de análisis como por ejemplo genéticos, que permitan verificar la presencia de daños a nivel de ADN.

A pesar de que en este estudio se evidenció que el camacho y el resto de las especies, excepto el girasol, no efectuaron un proceso de recuperación de suelos con Cd mediante el proceso de fitoextracción, siendo esta la técnica más efectiva debido a las facilidades que brinda, ya que con la translocación del contaminante a los órganos aéreos de la especie vegetal, basta con una cosecha para quitar el contaminante, es importante mencionar que la recuperación de suelos contaminados con Cd mediante fitoestabilización realizada por el camacho, no deja de ser una alternativa interesante y una

verdadera solución para la recuperación de suelos contaminados con Cd presentes en la actualidad en el Distrito Amazónico.

Es importante mencionar también que el pH posiblemente influyó de manera importante en el alto valor de remoción que presentaron las especies vegetales, ya que según Sims *et al.*, (1990), el transporte de metales se minimiza a valores de pH superiores a 6, con lo cual se puede señalar que debido a que los suelos empleados para esta investigación presentaron valores de pH que van entre 4 y 5, el Cd, metal pesado en estudio, tuvo mayor movilidad y por ende un mayor grado de biodisponibilidad lo que definitivamente ayudó al proceso de fitorremediación.

Hay un largo camino en la investigación de plantas acumuladoras de metales pesados ya que incluso se podría llegar a aumentar la capacidad de fitoextracción de estas a través de alternativas como el cultivo y reproducción de especies hiperacumuladoras seleccionadas; la optimización de las prácticas de manejo del suelo y la cosecha; la manipulación de las condiciones de la rizosfera y el desarrollo de plantas de crecimiento rápido y alta biomasa, con capacidad de absorción mejorada, a través de la ingeniería genética. Esta última medida podría conseguirse a través de la identificación y clonación de los genes responsables de la hiperacumulación de los metales pesados y su transferencia a plantas de cultivo de elevada productividad (Barceló y Poschenrieder, 2003).

Es muy importante recalcar que el objetivo último de un proceso fitorremediador de suelos contaminados no debe ser solamente eliminar el contaminante o, en su defecto, reducir su concentración hasta límites marcados en la legislación, sino sobre todo recuperar la salud del suelo, entendida ésta como la capacidad de este recurso para realizar sus funciones de forma sostenible desde una doble perspectiva antropocéntrica-ecocéntrica (Garbisu *et al.*, 2007).

5. CONCLUSIONES

Según la evaluación del Camacho a tres diferentes concentraciones de cadmio (20, 40 y 60 ppm) se ha determinado mediante ensayo de vivero que la especie vegetal en estudio presentó un mayor porcentaje de remoción (79,67%) en el tratamiento de mayor concentración del metal lo cual permite determinar que presenta un rango de tolerancia alto, lo que indica que la especie vegetal tiene una potencial capacidad fitorremediadora.

La exposición de las plantas de camacho a las concentraciones de Cd de 20, 40 y 60 ppm, no evidenciaron el inducir a un estrés oxidativo en las plantas, esto se comprobó gracias a los análisis de clorofila, carotenoides y ROS los cuales no presentaron, estadísticamente, diferencias significativas entre los tratamientos con Cd y el testigo. Tampoco existieron signos de toxicidad ni alteraciones visiblemente destacables, como diferencias entre la altura y la biomasa vegetal entre el testigo y los tratamientos.

Existió además una tendencia por parte de todas las especies vegetales, excepto del girasol, de acumular mayormente el metal pesado en su raíz que en los órganos de su parte aérea. Por ello se reportó, en el ensayo en vivero, hasta un 19,26% de acumulación de Cd en la parte aérea (tratamiento de 40 ppm) frente a un 90,24% de acumulación en la raíz del camacho (tratamiento de 20 ppm). Ya en la plataforma, el camacho fue la especie que acumuló en mayor grado el metal pesado en su parte aérea llegando a almacenar hasta un 20,1% del total de Cd presente en la planta y el maíz la especie que presentó un mayor porcentaje de Cd en sus raíces con un 94,1 %.

Para la prueba de la plataforma de fitorremediación, las tasas de remoción fueron las siguientes: 55,17% para el camacho, 46,23% para la cabezona y 59,88% para el maíz.

En el ensayo en campo con la plataforma de fitorremediación, el maíz fue la especie que presentó los mejores resultados en cuanto se refiera a tasa de remoción de Cd y por ende a la recuperación del suelo presentando un 59,88% y sobrepasando incluso a la especie endémica en estudio, el camacho, que tuvo un 55,17 %. Esto convierte al maíz en una alternativa extra como especie no endémica para el tratamiento de suelos contaminados con Cd en el Distrito Amazónico.

El girasol (*Helianthus annuus*), fue la especie vegetal que logró translocar la mayor cantidad de cadmio hacia los órganos de su parte aérea, presentando 6,78 ppm en sus hojas y tallos y 0,85 ppm en sus flores, llegando a acumular incluso más Cd en estos órganos que en su raíz (4,61 ppm) y sobrepasando por mucho a la acumulación del metal pesado en la parte aérea presentada por las otras tres especies después de los 90 días de exposición.

Las especies vegetales requirieron al menos 60 días para empezar a translocar el metal pesado a los órganos de su parte aérea. Sin embargo no puede asegurarse que transcurridos los 120 días de exposición al metal pesado las plantas llegaron a su límite de translocación del cadmio hacia la parte aérea, por lo cual es posible que necesiten más tiempo para llegar a dicho límite.

6. RECOMENDACIONES

Sería recomendable un estudio para identificar las mejores enmiendas a utilizar en los tratamientos de fitorremediación de suelos contaminados por Cd mediante el uso del camacho (*Xanthosoma undipes* Koch), con el fin de mejorar las propiedades del suelo y fomentar la supervivencia y el crecimiento de las plantas, esto debido a que en la presente investigación, en el ensayo en campo, el camacho presentó signos de marchitamiento y además algunas plantas murieron.

Se sugiere un estudio más profundo del comportamiento del girasol (*Helianthus annuus*), como una planta hiperacumuladora de Cd y por ende como una alternativa para la recuperación de suelos contaminados con dicho metal pesado ya que presenta características interesantes en cuanto se refiere a la tasa de absorción y sobre todo a su capacidad de translocar grandes cantidades de Cd hacia su parte aérea. Es de importancia asegurar un porcentaje de germinación alto para poder contar con un elevado número de plantas que ayuden a la recuperación de suelos.

Así también sería importante realizar una investigación más minuciosa del maíz como especie no endémica con potencial fitorremediador de cadmio, ya que presentó la mayor tasa de remoción en el estudio en campo realizado en la plataforma de fitorremediación.

Sería relevante también, el estudio de la capacidad fitorremediadora del camacho por un período más largo de tiempo, con el fin de verificar si esta especie vegetal logra translocar una mayor cantidad del metal pesado hacia sus órganos de la parte aérea con el transcurso del tiempo.

Como una meta a largo plazo, sería aconsejable, el estudio de los genes responsables de la acumulación y tolerancia de las plantas frente al Cd.

Esto como un inicio para posteriores investigaciones de plantas modificadas genéticamente que sobre expresen genes responsables de la hiperacumulación y que generen grandes cantidades de biomasa.

Se sugiere realizar un nuevo estudio con las mejores especies fitorremediadoras encontradas en esta investigación, variando el pH del suelo con el fin de verificar si éste afecta directamente la capacidad de absorción de Cd de dichas especies vegetales.

Sería relevante la evaluación de posibles agentes quelantes que aumenten la tasa de remoción de Cd efectuada por las especies vegetales en estudio.

Debido a que los efectos causados por el transporte del metal pesado por vía apoplástica difieren de los del transporte por vía simplástica, y también a que este está íntimamente relacionado con el nivel de toxicidad, sería importante el estudiar más a fondo la vía de transporte del Cd en las especies vegetales en estudio y sus posibles efectos.

7. BIBLIOGRAFÍA

Abollino, O., Aceto, M., Malandrino, M., Mentaste, E., Sarzanini, C. and Barberis, R. (2002). Distribution and mobility of metals in contaminated sites. chemometric investigation of pollutant profiles, *Environmental Pollution* 119: 177.

ACCION-ECOLOGICA (2000). *El Ecuador Post-Petrolero*, Quito- Ecuador.

Ali Dib, T., Monneveux, P. and Araus, J. L. (1990). Breeding durum wheat for drought tolerance. analytical, synthetical approaches, and their connections, *Symposium on Wheat breeding. Prospects and future approaches-Varna, Bulgaria* pp. 1–33.

Alloway, B. J. (1995). The mobilisation of trace elements in soils, *Contaminated Soils. 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements* p. 525.

Alloway, B. J. and Jackson, J. P. (1991). The behavior of heavy metals in sewage sludgeamendad soil, *Total Environment* pp. 157–176.

Anderson, T. A., Hoylman, J. M., Edwards, N. T. and Walton, B. T. (1997). Uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetation: A comparison of experimental methods, *Toronto-Canadá: Lewis Publishers*.

ATSDR (2008). Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades –reseña toxicológica del cadmio (versión para comentario público) (en inglés), Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU. Servicio de Salud Pública

.

Benavides, J., Roldan, F., Ocampo, A., Londoño, M., Pardo, A. and Perdomo, C. (2004). Efecto de la adición de nutrientes (nitrógeno y fósforo) e identificación de microorganismos degradadores de hidrocarburos de suelos contaminados con petróleo. (fase i), Master's thesis, Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería ambiental. Ambiental. Bogotá.

Benavides, M. P., Gallego, S. M. and Tomaro, M. (2005). Cadmium toxicity in plants, *Brazilian Journal of Plant Physiology* 17: 21–34.

Buatier, M., Sobanska, S. and Elsass, F. (2001). Tem-edx investigation on zn- and pbcontaminated soils, *Applied Geochemistry* 16: 1165.

Burkart, A. (1969). Gramíneas Flora Ilustrada de Entre Ríos, Col. Cient.

Burt, R., Wilson, M. A., Keck, T. J., Dougherty, B. D., Strom, D. E. and Lindahl, J. A. (2003). Trace element speciation in selected smelter-contaminated soils in anaconda and deer lodge valley, montana, usa, *Advances in Environmental Research* 8: 51–67.

Caviedes, M., Yáñez, C., Silva, E., Dobronsky, J., Zambrano, L., Caicedo, M. and Heredia, J. (2007). Iniap-124 mishca mejorado. nueva variedad de maíz amarillo harinoso, Boletín Divulgativo INIAP 2002, Quito-Ecuador 292: 6.

Chan, D. Y. and Hale, B. A. (2004). Differential accumulation of cd in durum wheat cultivars: uptake and retranslocation as sources of variation, *Journal of Experimental Botany* 55: 2571–2579.

Chen, B., Christie, P. and Li, L. (2001). A modified glass bead compartment cultivation system for studies on nutrient and trace metal uptake by arbuscular mycorrhiza, *Chemosphere* 42: 185–192.

Clemens, S. (2006). Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants, *Biochimie* 88: 1707–1719.

Clemens, S., Antosiewicz, D. M., Ward, J. M., Schachtman, D. P. and Schroeder, J. I. (1998). The plant cDNA lct1 mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95: 12043–12048.

Clemens, S., Palmgren, M. G. and Krämer, U. (2002). A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation, *Trends in Plant Science* 7: 309–315.

Clemente, R., Walker, D. J. and Bernal, M. P. (2005). Uptake of heavy metals and as by brassica juncea grown in a contaminated soil in aznalcóllar (spain): the effect of soil amendments, *Environmental Pollution* 138: 46–58.

Codina, J. C. and Pérez, A. (1993). Los metales pesados como poluentes tóxicos, *Environmental Contamination Toxicology* pp. 250–254.

Crisci, J. V. and Gancedo, A. D. (1971). Sistemática y etnobotánica del guembé (*philodendron bipinnatifidum*), una importante aráceasudamericana, *Mus. La Plata, Secc. Bot* 11: 285–302.

Cunningham, S. and Lee, C. (1995). Phytoremediation: Plantbased remediation of contaminated soils and sediments, *Bioremediation: Science and applications. Special Publication 43. Soil Science Society of America. Madison, WI* pp. 145–156.

Dahlgren, R. M. (1985). The families of the monocotyledons. structure, evolution and taxonomy, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany.*

Davies, B. E. (1995). *Heavy Metals in Soils*, Alloway B. J. Blackie Academic and Professional Publ.

Domínguez-Solís, J. R., López-Martin, M. C., Ager, F. J., Ynsa, M. D., Romero, L. C. and Gotor, C. (2004). Increased cysteine availability is essential for

cadmium tolerance and accumulation in *arabidopsis thaliana*, *Plant Biotechnology Journal* 2: 469–476.

FACENA-UNNE (2007). Guía de consultas diversidad vegetal, *Diversidad Vegetal Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE)*.

FAO-PNUMA (1983). Directrices para el control de la degradación de suelos, Roma.

Fatima, B., Flavio, A., Oliveira, C., Benedict, O. and William, T. (2003). Bioremediation of soil contaminated by diesel oil, *Brazilian Journal Microbiology* 1: 34.

Fedón, I. (2007). El género *cyperus* I. (*cyperaceae*, *liliopsidae*) en el herbario nacional de venezuela (ven), *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 24 (1): 183–189.

Freire Fierro, A. (2004). *Botánica Sistemática Ecuatoriana*, Missouri Botanical Garden, FUNDACYT, QCNE, RLB y FUNBOTANICA.

Galván, G. (2006). Comparación entre dos modelos biológicos para la absorción de cadmio y su posterior aplicación como fitorremediadores en aguas contaminadas, Master's thesis, UAQ, Santiago de Querétaro.

García, I. and Dorransoro, C. (2005). Contaminación por metales pesados. en tecnología de suelos, Master's thesis, Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola.

Gonzalez, A. M. and Arbo, M. (2008). Botánica morfológica - facultad de ciencias agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

Gouia, H., Ghorbal, M. H. and Meyer, C. (2000). Effects of cadmium on activity of nitrate reductase and on other enzymes of nitrate assimilation pathway in bean, *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 629–638.

Guaglianone, E. R. (1996). Cyperaceae. plantas hidrófilas de la isla Martín García, Ministerio de la Producción. Prov. Buenos Aires. Comisión de Investigaciones científicas pp. 70–96.

Guerinot, M. L. (2000). The zip family of metal transporters, *Biochimica et Biophysica Acta* 1465: 190–198.

Gutiérrez, H., de la Vara, R., Cano, A. and Osorio, M. (2008). Análisis y Diseño de experimentos, México: Mc Graw Hill.

Hamer, D. (1986). Metallothionein, *Annual Review of Biochemistry* 55: 913–951.

Han, F. X., Banin, A., Kingery, W. L., Triplett, G. B., Zhou, L. X., Zheng, S. J. and Ding, W. X. (2003). New approach to studies of heavy metal redistribution in soil, *Advances in Environmental Research* 8: 113–120.

Heywood, V. H. (1985). *Las plantas con flores*, Ed. Reverté.

Hill, A. (1965). *Botánica Económica, plantas útiles y productos vegetales*, Omega.

Huertos, E. and Romero, A. (2008). Contaminación de suelos por metales pesados, *Revista de la sociedad española de mineralogía* pp. 48–60.

Krarp, C. and Moreira, I. (1998). *Hortalizas*. Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Editorial Universitaria.

Lambers, H., Stuart Chapin III, F. and Pons, T. (1998). *Plant Physiological Ecology*, New York: SpringerVerlag.

Lasat, M. M. (2002). Phytoextraction of toxic metals: A review of biological mechanisms, *Journal of Environmental Quality* 31(1): 109–120.

León, J. (1987). *Botánica de los cultivos tropicales*, Inst. Interamericano de Cooperación para la Agricultura pp. 1–445.

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents, Abstracts of 6Th International Congress on Photosynthesis. Brussels p. 415.

Lovley, D. R. (2003). Cleaning up with genomics: Applying molecular biology to bioremediation, Nature Reviews. Microbiology 1 (1): 35–44.

Macías, F. and Ortiz, R. (1993). Contaminación de suelos: algunos hechos y perspectivas,
Problemática Geoambiental y Desarrollo - V Reunión Nacional de Geología Ambiental y Ordenación del Territorio. Murcia 1: 53–74.

Maksymiec, W., Wojcik, M. and Krupa, Z. (2007). Variation in oxidative stress and photochemical activity in arabidopsis thaliana leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of jasmonate and ascorbate, Chemosphere 66: 421– 427.

Mas, A. and Azcúe, J. M. (1993). Metales en sistemas biológicos, Promociones y Publicaciones Universitarias, S.A.

Mulligan, C. N., Yong, R. N. and Gibbs, B. F. (2001). Remediation technologies for metalcontaminated soils and groundwater: an evaluation, Engineering Geology 60: 193–207.

Nicora, E. (1987). Los géneros de Gramíneas de América Austral, Ed. Hemisferio Sur.

Nilsen, E. T. and Orcutt, D. M. (1996). Physiology of plants under stress. Abiotic factors, New York: John Wiley & Sons, INC.

Norvell, W. A., Wu, J., Hopkins, D. G. and Welch, R. (2000). Association of cadmium in durum wheat grain with soil chlorine and chelate-extractable soil cadmium, Soil Science Society of America Journal 64: 2162–2168.

Novotny, V. . (1995). Diffuse sources of pollution by toxic metals and impact on receiving waters, Heavy Metals. Problems and Solutions. Springer-Verlag Berlin Heidelberg p. 414.

Okoh, A. I. and Trejo-Hernandez, M. R. (2006). Remediation of petroleum hydrocarbon polluted systems: Exploiting the bioremediation strategies, African Journal of Biotechnology 5 (25): 2520–2525.

Olayinka, I. N. (2008). Contaminant source as factor of soil heavy metals toxicity and bioavailability to plants, Environmental Research Journal 2(6): 322–326.

Ortiz, D. F., Ruscitti, T., McCue, K. F. and Ow, D. W. (1995). Transport of metalbinding peptides by hmt1, a fission yeast abc-type vacuolar membrane protein, Journal of Biological Chemistry 270: 4721–4728.

Ortiz, I., Sanz, J., Dorado, M. and Villar, S. (2007). Técnicas de recuperación de suelos contaminados, *vt miód* 6: 5–55.

Pagnanelli, F., Moscardini, E., Giuliano, V. and Toro, L. (2004). Sequential extraction of heavy metals in river sediments of an abandoned pyrite mining area: pollution detection and affinity series, *Environmental Pollution* 132: 189–201.

Park, S., Cheng, N. H., Pittman, J. K., Yoo, K. S., Park, J., Smith, R. H. and Hirschi, K. D. (2005). Increased calcium levels and prolonged shelf life in tomatoes expressing arabidopsis h⁺/ca²⁺ transporters, *Plant Physiology* 39: 1194–1206.

Piechalak, A., Malecka, A., Baralkiewicz, D. and Tomaszewska, B. (2008). Lead uptake, toxicity and accumulation in phaseolus vulgaris plants, *Biologia Plantarum* 52 (3): 565–568.

Pinto, A. P., Mota, A. M., De Varennes, A. and Pinto, F. C. (2004). Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants, *Science of the Total Environment* 326: 239–274.

Pomponi, N., Censi, V., Di Girolamo, U., De Paolis, A., Di Toppi, L. S., Aromolo, R., Constantino, P. and Cardarelli, M. (2006). Overexpresion of arabidopsis

phytochelatin synthase in tobacco plants enhances cd^{2+} tolerance and accumulation but not translocation to the shoot, *Planta* 223: 180–190.

Reddy, K. R., Admas, J. F. and Richardson, C. (1999). Potential technologies for remediation of brownfield, *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management* 3 (2): 61–68.

Restrepo, R. (2002). Derrame de hidrocarburos: Impacto en los ecosistemas tropicales, ECOPETROL Instituto Colombiano de Petróleo.

Reyes, F. and Ajamil, C. (2005). Descripción de los impactos de la actividad petrolera. En: *Petróleo, Amazonía y Capital Natural*, Quito: Fondo Editorial C.C.E.

Rittman, B. E. and McCarty, P. L. (2001). *Biotecnología del medio ambiente. Principios y Aplicaciones*, Madrid: Mc Graw Hill.

Rivero, A. (2006). Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas, International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC).

Robinson, B. H., Lombi, E., Zhao, F. J. and McGrath, S. P. (2003). Uptake and distribution of nickel and other metals in the hyperaccumulator, *Berkheya Coddii*. *New Phytologist* 158: 279–285.

Royal-Botanic-Gardens (2009). Xanthosoma, Kew: World Checklist of Selected Plant Families.

Salamanca, S. (1983). Pastos y forrajes, producción y manejo., Universidad Santo Tomas. Centro de enseñanza desescolorizada-Bogota pp. 190–195.

Salt, D. E., Prince, R. C., Pickering, I. J. and Raskin, I. (1995). Mechanism of cadmium mobility and accumulation in indian mustard, *Plant Physiology* 109: 1427–1433.

Salt, D. E. and Wagner, G. J. (1993). Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots. evidence for a cd^{2+}/h^{+} antiport activity, *Journal of Biological Chemistry* 268: 12297–12302.

Sandalio, L. M., Dalurzo, H. C., Gomez, M., Romero-Puertas, M. C. and del Río, L. A. (2001). Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants, *Journal of Experimental Botany* 52: 2115–2126.

Sauquillo, A., Rigol, A. and Rauret, G. (2003). Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments, *Trends in Analytical Chemistry* 22: 152–159.

Schmidt, W. (2000). Suelos contaminados con hidrocarburos: la biorremediación como una solución ecológicamente compatible, Cooperación Técnica Alemana (GTZ).

SenGupta, A. K. (2002). Environmental separation of heavy metals. Engineering Processes, Florida: Lewis Publishers.

Shah, K. and Nongkynrih, J. M. (2007). Metal hyperaccumulator and bioremediation, *Biologia Plantarum* 51: 618–634.

Sims, J. L., Sims, R. and Mathews, J. (1990). Approach to bioremediation of contaminated soil, *Hazardous Waste and Hazardous Materials* pp. 117–149.

Siva, S., Brett, R., Tessa, M., Vogeler, I., Clothier, B. and Grant, L. (2004). Bioremediation of soils contaminated with organic compounds, Northcott and Don McNaughton p. 1455.

Skladany, G. J. and Metting, F. B. (1993). Bioremediation of contaminated soil, Metting Jr., F.B. (ed.). *Soil microbial ecology. Applications in agricultural and environmental management.* Marcel Dekker pp. 483–513.

Sposito, G. (1989). *The Chemistry of Soils*, Oxford University Press, Inc.

Steven, A. (1997). *Introduction to Phytoremediation.* The Standard Handbook of Hazardous Waste Treatment and Disposal, Ohio-USA: McGraw Hill. Second Edition.

Stomp, A. M., Han, K. H., Wilbert, S., Gordon, M. and Cunningham, S. D. (1994). Genetic strategies for enhancing phytoremediation. Recombinant DNA Technology II, Ann New York Acad.

Tambussi, E. (2004). Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: Algunos casos de estudio, Master's thesis, Universidad de Barcelona.

Thermo-Fisher-Scientific (2008). Atomic Absorption Spectrometry Methods Manual.

Thomine, S., Wang, R., Ward, J., Crawford, N. and Schroeder, J. (2000). Cadmium and iron transport by members of a plant metal transporter family in arabidopsis with homology to nramp genes, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 97: 4991–4996.

US-Environmental-Protection-Agency (1996). EPA-3052.

US-Environmental-Protection-Agency (2007). EPA-3051.

USEPA (1996). A Citizen's Guide to Natural Attenuation - Technology Fact Sheet, United States Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response. EPA 542-F-96-015.

Wills, J. (2000). Environmental effects of drilling waste discharges, A Survey of Offshore Oilfield Drilling Wastes and Disposal Techniques to Reduce the Ecological Impact of Sea Dumping. Sakhalin Environment Watch.

Yáñez, G. (2007). Manual de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras, Manual No. S/n. FAO, INAMHI, MAG. Quito, Ecuador p. 23.