



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACION, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERO AGROPECUARIO**

**TEMA: “DETERMINAR EL USO POTENCIAL DE *Floscopa robusta*
(Seub.) C.B. Clarke COMO AGENTE DE FITORREMEDIACIÓN EN
CADMIO”.**

AUTOR: MONTATIGSE CAIZA, JHONATAN ISRAEL

DIRECTOR: Dra. NARANJO GAYBOR, SANDRA JUDITH Ph.D.

SANTO DOMINGO

2020



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “**DETERMINAR EL USO POTENCIAL DE *Floscopa robusta* (Seub.) C.B. Clarke COMO AGENTE DE FITORREMEDIACIÓN EN CADMIO**” fue realizado por el señor *Montatigse Caiza, Jhonatan Israel* el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo 21 de enero de 2020

Firma:

Una firma manuscrita en tinta azul que parece decir 'Sandra Judith Naranjo Gaybor', escrita sobre una línea de puntos.

Dra. Naranjo Gaybor, Sandra Judith

C. C 1709384422



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, *Montatigse Caiza, Jhonatan Israel*, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: *“Determinar el uso potencial de *Floscopa robusta* (seub.) C.b. Clarke como agente de fitorremediación en cadmio”* es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Santo Domingo 21 de enero de 2020

Una firma manuscrita en tinta azul, que parece ser "Jhonatan Israel Montatigse Caiza", sobre una línea de puntos.

Jhonatan Israel Montatigse Caiza

C. C1726609041



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO

AUTORIZACIÓN

Yo, Montatigse Caiza, Jhonatan Israel autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: “Determinar el uso potencial de Floscopa robusta (seub.) C.b. Clarke como agente de fitorremediación en cadmio” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Santo Domingo 21 de enero de 2020

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jhonatan Israel Montatigse Caiza', written over a dotted line.

Jhonatan Israel Montatigse Caiza

C. C 1726609041

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado con amor a mi madre Blanca Caiza por demostrarme siempre su cariño y su apoyo incondicional y por enseñarme que no hay imposible.

A mi familia quienes han aportado de una u otra manera a lo largo de mi vida y a la vez estuvieron a mi lado apoyándome hasta llegar a cumplir mi meta.

Jhonatan Montatigse

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de tesis quiero agradecer a la UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mi directora de tesis, Dra. Sandra Naranjo y Cotutores Dr. Santiago Ulloa y Dr. Fernando Hurtado por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar con éxito este trabajo de investigación.

También me gustaría agradecer a mis docentes que han aportado a lo largo de toda mi carrera universitaria y a la vez me han motivado a concluir mis estudios con éxito.

En el transcurso de mi vida estudiantil he conocido muy buenos amigos quienes han aportado en mi vida en especial a mi amigo Paul por haberme motivado día a día a seguir adelante.

Jhonatan Montatigse

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARATULA	
CERTIFICACIÓN	i
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD.....	ii
AUTORIZACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN.....	xi
SUMMARY	xii
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Cadmio y la planta	4
2.2. Fitorremediación.....	6
2.2.1. Concepto	6
2.3. Técnicas de fitorremediación.....	7
2.3.1. Fitoestabilización	7
2.3.2. Fitofiltración.....	7
2.3.3. Fitovolatilización	7
2.3.4. Fitoextracción.....	8

2.4. Plantas metalófitas	8
2.5. Niveles de concentraciones de cadmio en plantas	10
2.6. <i>Floscopa robusta</i>	11
2.6.1. Taxonomía.	11
2.6.2. Origen.....	11
2.6.3. Morfología	12
2.6.4. Investigaciones en familia Commelinaceas.	12
CAPÍTULO III	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN	14
3.1.1. Ubicación Política	14
3.1.2. Ubicación Geográfica	15
3.1.3. Ubicación Ecológica del área de estudio	15
3.2. MATERIALES	16
3.2.1. Material experimental	16
3.2.2. Material	17
3.2.3. Equipos.....	17
3.2.4. Insumos	17
3.2.5. Instrumentos.....	17
3.3. MÉTODOS	18

3.3.1. Diseño Experimental.....	18
3.3.2. Análisis estadístico:.....	21
3.3.3. Variables a medir.	23
3.3.4. Métodos específicos de manejo del experimento	25
3.3.5. Análisis de datos	30
CAPÍTULO IV	31
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1. Determinación de altura.....	31
4.2. Determinación de índice de tolerancia (IT).	32
4.3. Determinación de materia seca.	33
4.4. Determinación de Biodisponibilidad de cadmio.....	35
4.5. Determinación de la absorción de cadmio en las plantas	42
4.6. Determinación de factor de translocación (FT).	46
CAPÍTULO V	48
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
5.1. Conclusiones.....	48
5.2. Recomendaciones	50
BIBLIOGRAFÍA	51

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°	Pág.
Tabla 1. <i>Efecto de niveles típicos para cadmio en plantas.</i>	10
Tabla 2. <i>Taxonomía de la planta Floscopa robusta.</i>	11
Tabla 3. <i>Descripción de los tratamientos a evaluar</i>	19
Tabla 4 <i>Análisis de varianza de un diseño en D.C.A.</i>	22
Tabla 5. <i>Soluciones semanales de Cd a diferentes concentraciones.</i>	27
Tabla 6 <i>Análisis de varianza para la variable altura a diferente días en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitorremediador de cadmio</i>	31
Tabla 7. <i>Medias de longitud de parte aérea (altura) a diferentes días e índice de tolerancia en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitoremediador de cadmio</i>	32
Tabla 8 <i>Análisis de varianza para la variable porcentaje de materia seca en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitoremediador de cadmio</i>	33
Tabla 9 <i>Análisis de varianza para la variable biodisponibilidad de cadmio en parte aérea en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitorremediador de cadmio</i>	35
Tabla 10 <i>Análisis de varianza para la variable biodisponibilidad de cadmio en parte radical en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitorremediador de cadmio</i>	37
Tabla 11 <i>Análisis de varianza para la variable absorción de cadmio en parte aérea en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitorremediador de cadmio</i>	42
Tabla 12 <i>Análisis de varianza para la variable absorción de cadmio en parte radical en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitoremediador de cadmio</i>	44

Tabla 13 <i>Medias de concentraciones de Cd en diferentes partes de la planta (radical y aérea) y factor de translocación en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitorremediador de cadmio</i>	46
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	Pág.
Figura 1. Mapa de ubicación política y geográfica de Luz de América.....	15
Figura 2 Prueba de Tukey para la variable porcentaje de materia seca en parte radical.....	34
Figura 3. Prueba de Tukey para la variable biodisponibilidad de cadmio en la parte aérea.	36
Figura 4 Prueba de Tukey para la variable biodisponibilidad de cadmio en parte radical.	38
Figura 5 Biodisponibilidad de cadmio en parte radical y aéreo de Floscopa robusta.....	40
Figura 6 Prueba de Tukey para la variable absorción de cadmio en parte aérea.	43
Figura 7 Prueba de Tukey para la variable absorción de cadmio en parte radical.....	45

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar el uso potencial de *Floscopa robusta* (seub.) C.b. Clarke como agente de fitorremediación en cadmio. Esta investigación fue realizada aplicando ClCd_2 a dosis de 2,5; 5; 10; 20; 40 y 80 mgkg^{-1} en invernadero por un tiempo de cuatro semanas. El parámetro evaluado fue la altura en el siguiente mes. Las concentraciones de Cd en los tejidos vegetales de la región aérea y radical fueron estimadas por espectroscopía de absorción atómica. Se midió el índice de tolerancia tomando la longitud aérea (altura) de *Floscopa robusta*, mostrando máxima tolerancia al Cd a 2,5 mgkg^{-1} con 96,75. La mayor bioacumulación de Cd se logró a 80 mgkg^{-1} en la región radical y aérea, acumulando 26; 4,72 mgkg^{-1} de materia seca respectivamente, además se calculó la absorción de Cd en el tejido vegetal de una planta determinado que a la máxima exposición de ClCd_2 80 mgkg^{-1} absorbe 0,49 μg de Cd/planta en la región aérea y 1,85 μg de Cd/planta en la región radical. El factor de translocación de raíz a brote se calculó con los contenidos de Cd de los mismo, siendo < 1 surgiendo que no califica como hiperacumuladora para Cd, pero una excelente candidata para fitoestabilización ya que estabiliza el Cd en la raíz. La fitoestabilización es una herramienta ventajosa en grandes áreas y con poco financiamiento ya que no es necesario extraerla del sitio ya que mantiene el Cd estable en la planta.

PALABRAS CLAVE:

- FITORREMEDIACIÓN
- FITOESTABILIZACIÓN
- TOLERANCIA
- TRANSLOCACIÓN

SUMMARY

The objective of the study was to determine the potential use of *Floscopa robusta* (seub.) C.b. Clarke as a cadmium phytoremediation agent. This research was carried out by applying ClCd_2 at a dose of 2.5; 5; 10; twenty; 40 and 80 mgkg^{-1} in a greenhouse for a period of four weeks. The parameter evaluated was the height in the following month. Cd concentrations in plant tissues of the aerial and radical region were estimated by atomic absorption spectroscopy. The tolerance index was measured by taking the aerial length (height) of *Floscopa robusta*, showing maximum tolerance to Cd at 2.5 mgkg^{-1} with 96.75. The highest bioaccumulation of Cd was achieved at 80 mgkg^{-1} in the radical region and aerial, accumulating 26; 4.72 mgkg^{-1} of dry matter respectively, in addition the absorption of Cd in the plant tissue of a given plant was calculated than at the maximum exposure of ClCd_2 . 80 mgkg^{-1} absorbs 0.49 μg of Cd / plant in the aerial region and 1.85 μg of Cd / plant in the radical region. The root-to-bud translocation factor was calculated with the Cd contents thereof, being <1 emerging that does not qualify as a hyperaccumulator for Cd, but an excellent candidate for phytostabilization since it stabilizes the Cd at the root. Phytostabilization is an advantageous tool in large areas and with little financing since it is not necessary to extract it from the site since it keeps the Cd stable in the plant.

KEYWORD:

- **PHYTORREMEDICATION**
- **PHYTESTABILIZATION**
- **TOLERANCE**
- **TRANSLOCATION**

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La manifestación de metales pesados se produce naturalmente en bajas concentraciones, y se piensa como un contaminante del suelo cuando tiene una aparición masiva (An, 2004), según la FAO y el Codex alimentario los límites máximos de concentraciones de cadmio total en suelos agrícolas es de $1,4 \text{ mg/kg}^{-1} \text{ Cd}$ (FAO, 2019). Ciertos metales pesados son necesarios para las células, pero pueden resultar tóxicos para los seres vivos en cantidades elevadas (Spain, 2003) Existen metales pesado que no tienen aplicación biológica conocida y en concentraciones altas pueden ser dañinos además de acumularse en el sistema de seres vivos(Garcia & Dorronsoro, 2005).

Concentraciones elevadas en el suelo de metales pesados producen la retardo en el crecimiento normal de las plantas, aparte de empobrecimiento de las poblaciones microbianas (Martin, 2000).

Las concentraciones de cadmio en el medio ambiente se ha elevado en los últimos años, por el crecimiento de la minería, la producción metalífera, metalúrgica, contaminación accidental y aplicación de fertilizantes fosfatados, la principal causa de contaminación de Cd en los suelos destinados a la agricultura (Rodríguez *et al*, 2008).

En el Ecuador ensayos hechos por la SENECYT (2011) presentan datos de contenidos de cadmio en el suelo en Santa Elena; El Oro y Manabí en una concentración de 1.76 mg/kg, 4,87 mg/kg y 1,35 mg/kg respectivamente (FAO, 2019).

El cacao ecuatoriano uno de los más afectados por las nuevas normas de la Unión Europea, ha determinado que contenidos superiores o iguales al 50% de sólidos de cacao debe tener máximo 0,8 mg/kg Cd, lo que constituye una barrera para la exportación del fruto (FAO, 2018).

La Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR) indica que el Cd se encuentra entre los 275 elementos químicos más peligrosos, y cantidades altas en el organismo humano causa daños contraproducentes en riñón, hígado, pulmón, páncreas, testículos, placenta y huesos (Martínez, 2013).

Existen plantas con la capacidad de enmendar suelos contaminados por metales pesados incorporando en su organismo evitando contaminación del ambiente a estas plantas se las denomina plantas metalófitas, que logran evitar la absorción de los metales o translocarlos hacia sus órganos, acumulándolos rápidamente en su biomasa aérea (Baker & Proctor, 1990).

Durante la investigación se aplicó diferentes dosis de Cadmio con el fin de evaluar su tolerancia, determinar el órgano que presenta mayor bioacumulación en la planta *Floscopa robusta* (Seub.) C.B. Clarke.

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Cadmio y la planta

El cadmio (Cd) que corresponde al grupo IIB de la tabla periódica, considerado un metal tóxico, se origina de erupciones volcánicas, incendios forestales y por el viento que lleva partículas desde el suelo hacia el ambiente, el contenido de cadmio se ha elevado como el resultado de la actividad industrial, minería, uso y purificación de Cd, quema de combustibles fósiles, uso de fertilizantes fosfatados, etc. (Pernía *et al.*, 2008).

El cadmio puede combinarse con otros elementos químicos para formar compuestos como óxidos, cloruros y sulfuros de manera que se unen a partículas de suelo permaneciendo alrededor de 15 a 30 años (Pernía *et al.*, 2008).

El Cd logra acumular en el organismo de plantas y animales, entrar en la cadena alimenticia de tal manera que su concentración se puede elevar exponencialmente a lo largo de toda la cadena (Pernía *et al.*, 2008).

De manera general el cadmio se halla en forma no biodisponible, es poco soluble en agua y se encuentra incorporado a partículas del suelo (Pernía *et al.*, 2008). La absorción de Cd por las raíces depende de su biodisponibilidad, su concentración en el suelo, la cantidad de materia orgánica presente, el pH, el potencial redox, la temperatura, y la concentración de otros elementos (Di Toppi & Gabrielli, 1999). Clemens, (2006) las plantas son capaces de acidificar el suelo por medio de fitosideróforos o produciendo exudados carboxilos, haciendo biodisponible a los metales pesados. Otra forma de ingresar el Cd a la planta es utilizando transportadores de otros metales como Ca^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} ; de igual forma, las bacterias y las micorrizas son parte importante en la biodisponibilidad de estos metales en el suelo (Clemens *et al.*, 2002). Los metales ya inmóviles, son capturados por las células de las raíces, después se une a la pared celular de las células epidérmicas y luego translocados por intercambio iónico a toda la planta (Pernía *et al.*, 2008).

Plantas sembradas en suelos con altos niveles de cadmio revelan síntomas como lesiones visibles en términos de clorosis, inhibición de crecimiento, ennegrecimiento de las puntas de las raíces y finalmente la muerte (Wójcik & Tukiendorf, 2004)

El Cd en rábanos, se puede absorber en las hojas llegando a acumular mayor contenidos del metal, provocando marchitamiento en las mismas, disminución en la longitud de sus raíces y de la biomasa, en zanahorias se da un mayor grado de acumulación y acortamiento de raíces (Intawongse & Dean, 2006).

Existen plantas capaces de acumular cantidades altas de metales pesados, son llamadas hiperacumuladoras y su capacidad de bioacumular depende de la especie vegetal y la naturaleza del contaminante, además de la capacidad del suelo para retener el metal; la interacción planta, raíz, metal y el metabolismo vegetal (Vig *et al.*, 2003).

2.2. Fitorremediación

2.2.1. Concepto

La fitorremediación involucra usar plantas para eliminar, transferir, estabilizar o degradar contaminantes en el suelo, sedimentos y agua (Padmavathiamma , 2007). La fitorremediación es una tecnología que se emplea para contener (fitofiltración y fitoestabilización) o eliminar (fitoextracción y fitovolatilización) los metales contaminantes del suelo (Padmavathiamma , 2007)

2.3. Técnicas de fitorremediación.

2.3.1. Fitoestabilización

La fitoestabilización aprovecha la capacidad de las plantas para retener los contaminantes en el suelo, por asimilación y acumulación en la raíz, adhieren a sus raíces o precipitación en el interior de la región radicular y de forma física se da la estabilización en los suelos (Padmavathiamma , 2007) .

2.3.2. Fitofiltración

Usa raíces de plantas (rizofiltración) o plántulas (blastofiltración) para absorber o adsorber contaminantes, principalmente metales del agua y residuos acuosos corrientes (Padmavathiamma , 2007) .

2.3.3. Fitovolatilización

Los investigadores han trabajado en encontrar plantas de forma natural o modificadas genéticamente capaces de absorber As, Hg y Se del suelo, convertirlos biológicamente en especies gaseosas dentro de la planta, y soltándolos en la atmósfera. (Padmavathiamma , 2007)

2.3.4. Fitoextracción

Conocido también como fitoacumulación, es la captación y translocación de contaminantes metálicos en el suelo por raíces de plantas en componentes sobre el suelo de las plantas. Existen plantas hiperacumuladoras de metal natural que pueden acumular y tolerar metales en mayores concentraciones en brotes que las que generalmente se encuentran en no acumuladores, sin síntomas visibles (Padmavathiamma , 2007)

2.4. Plantas metalófitas

Se denomina plantas metalófitas a aquellas que tienen la capacidad fisiológica de resistir, tolerar, y sobrevivir en suelos donde abundan metales pesados los mismos que se acumulan en sus tejidos aéreos; ya sea porque restringen la absorción o translocación de estos elementos hacia las hojas manteniendo concentraciones bajas en su biomasa, ha este fenómeno se lo conoce como exclusión (Servellón, 2011).

Algunas plantas absorben y acumulan en su biomasa los metales pesados provenientes del suelo, a estas se las denomina acumuladoras (Jara *et al.*, 2014).

También existen plantas en una respuesta intermedia llamadas indicadoras las mismas cuya concentración metálica refleja la que existe en el suelo (Servellón, 2011).

Este fenómeno ocurre por la biodisponibilidad de los metales en el suelo y el eficaz sistema de captación de metales que posee la planta, utilizan moléculas transportadoras como las reguladoras de zinc proteína transportadora, proteína transportadora de cobre, etc. (Krämer *et al.*, 2007).

Las plantas también puede secretar metales, moléculas quelantes como sideróforos y ácidos orgánicos (malato, citrato) y biosurfactantes como surfactantes bacterianos al suelo adyacente, y sacar protones de las raíces para acidificar el suelo y movilizar metales ligados al suelo (Eapen *et al.*, 2007).

Los metales pesados no pueden destruirse biológicamente pero pueden ser transformados de un estado de oxidación o complejo orgánico a otro, alterando su estado de oxidación el metal puede ser más soluble en agua y es eliminado por lixiviación (Garbisu & Alkorta , 2001)

Hay diferentes grados de acumulación metálica desde trazas hasta más del 1 % de la materia seca de la planta (Diez, 2008). También existen otras plantas que se denominan plantas hiperacumuladoras, estas son capaces de acumular más de 100 mg kg^{-1} de Cd (Jara *et al.*, 2014).

Truua *et al.*, (2015), ha logrado identificar un total de 450 especies de plantas hiperacumuladoras, las mismas que van desde hierbas anuales hasta perennes. Las plantas utilizadas deben ser cosechadas del sitio de la remediación para su eliminación o recuperación del contaminante (Truua *et al.*, 2015).

2.5. Niveles de concentraciones de cadmio en plantas

Tabla 1. *Efecto de niveles típicos para cadmio en plantas.*

Estado	Concentración de metal (mg kg ⁻¹)
	Cd
Deficiente	-
Normal	0,05 – 2
Fitotóxico	7 – 700

Fuente: (Pugh, 2002)

2.6. *Floscopa robusta*.

2.6.1. Taxonomía.

Tabla 2. Taxonomía de la planta *Floscopa robusta*.

Clase	Equisetopsida C. Agardh
Sub clase	Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden	Lilianaes Takht
Orden	Commelinales Mirb. ex Bercht. & J. Presl
Familia	Commelinaceae Mirb.
Género	<i>Floscopa</i> Lour.
Especie	<i>Floscopa robusta</i> (Seub.) C.B. Clarke

Fuente: (Tropicos.org. Missouri Botanical Garden, 2018).

2.6.2. Origen

Distribución: De Honduras a Colombia, Ecuador y Perú (González, 2009).

En Ecuador se ha reportado *Floscopa robusta* en la provincias de Los Ríos, Morona Santiago, Napo, Pastaza, Sucumbíos, Zamora (Tropicos.org. Missouri Botanical Garden, 2018).

2.6.3. Morfología

Floscopa robusta es una planta herbácea de 0,2 – 0,4 m, se caracteriza por tener tallos erectos, con nudos inferiores a veces rizomatosos. Presenta hojas simples, alternas, de 4,5 - 23 cm de largo y ancho 1,6 - 8 cm, elípticas a elíptico-oblongas, márgenes enteros. Posee inflorescencias axilares y terminales, tirsoideas, de 3-11 cm. Flores: cálices con los sépalos de 3 mm, verdes; corolas con los pétalos de tamaño semejante a los sépalos, blancos. Cápsulas bivalvadas, de 3-4.5 mm; semillas 2, elipsoidales, acostilladas (González, 2009).

2.6.4. Investigaciones en familia Commelinaceae.

Floscopa robusta

Verdezoto & Bautista (2017), investigaron la dosis óptima del herbicida glifosato y glufosinato en el control de *Floscopa robusta* (Seub.) C.B. Clarke; considerada una maleza cuya presencia ha sido mayor en cultivos de sombra como cacaoteras, cafetales, bananeras y palma africana por su rápido crecimiento y tolerancia a glifosato, estos indican que empleando la dosis recomendada de 1 L ha⁻¹ de glifosato no tiene efecto sobre *Floscopa robusta*, al aplicar dosis altas con 8 L ha⁻¹ de glifosato se obtiene un control efectivo del 90 %, pero estas vuelven a rebrotar.

Floscopa robusta a dosis bajas 0,5 L ha⁻¹ de glufosinato tiene una efectividad del 100 % (Verdezoto & Bautista, 2017).

De acuerdo a las investigaciones realizadas se concluye que a dosis bajas de glufosinato se obtuvo un mejor control de *Floscopa robusta*, no así en el glifosato (Verdezoto & Bautista, 2017)

Commelina benghalensis (L)

La investigación con *Commelina benghalensis* (L) que crece en sedimentos de drenaje urbano en Kampala, Uganda, determinó las concentraciones y distribución de metales pesados en la planta para conocer si esta se puede utilizar en fitoextracción y fitoestabilización. Concluyendo que esta especie tiene una alta acumulación de metales pesados en raíces y baja translocación en los brotes lo que la hace ideal para fitoestabilización de Pb, Cd, Cu, Zn, Mn, y Fe (Sekabira *et al.*, 2011).

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DEL LUGAR DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Ubicación Política

La investigación se realizó en las instalaciones de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, ubicada en la Hda. Zoila Luz km 24 vía Santo Domingo-Quevedo.

Parroquia: Luz de América.

Cantón: Santo Domingo.

Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas.

3.1.2. Ubicación Geográfica

La Hda. Zoila Luz se encuentra a una altitud de 270 m.s.n.m. en las coordenadas UTM 9954241 Este, 688477 Norte.

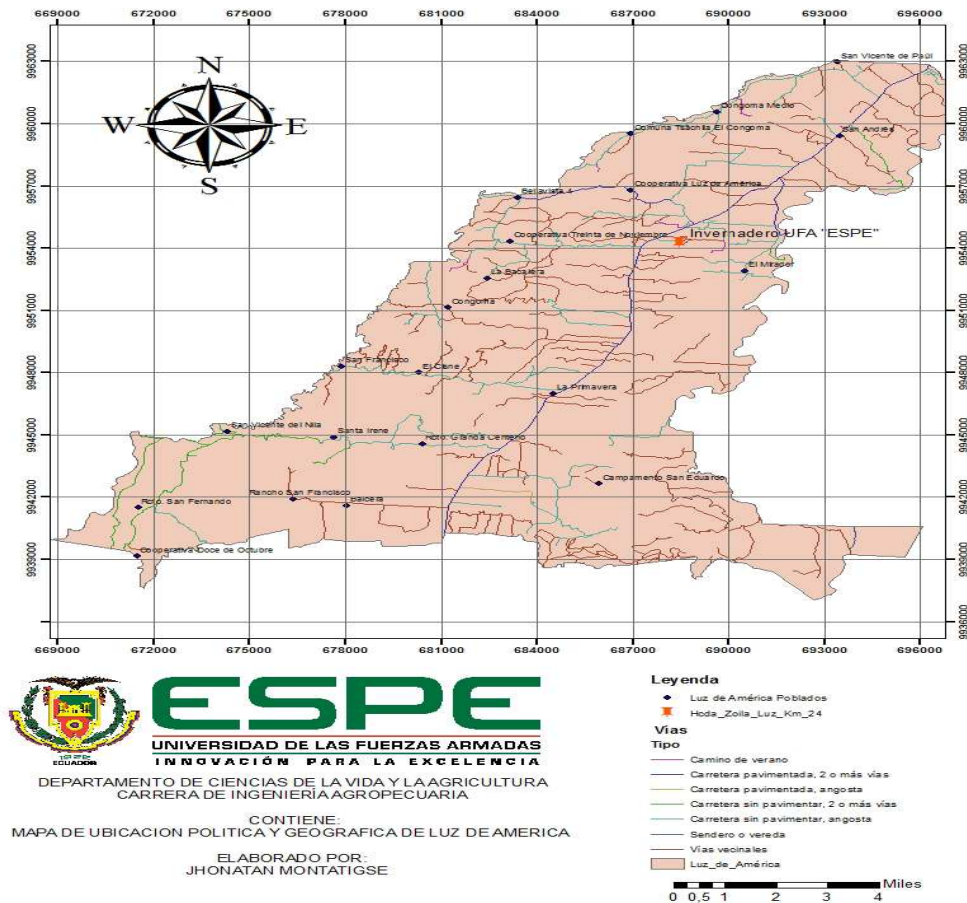


Figura 1. Mapa de ubicación política y geográfica de Luz de América.

3.1.3. Ubicación Ecológica del área de estudio

Zona de vida : Bosque Húmedo Tropical (Bht) (Holdridge, 1987).

Altitud : 380 msnm.

Temperatura media anual : 23,6 °C.

- Precipitación media anual : 2980 mm/año.
- Suelos : Son limo arcillosos y arenosos con pH 5,5 a 6,5, plano y ondulado con pendiente de 0 al 20 %.
- Vegetación : Vegetación natural, pastizales asociados con árboles forestales que crecen espontáneamente, de los cuales los más notables e importantes son el laurel *Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Cham.y guayacán *Tabebuia chrysantha* (Jacq.) Nicholson. El incremento de monocultivos extensivos como los mismos pastos, piña, palmito, cacao, maracuyá y palma han reducido notablemente la diversidad de la zona.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Material experimental

Plantas de *Floscopa robusta* se obtuvo a partir de semillas recolectadas en cultivos de la parroquia de Luz de América siguiendo la metodología empleada por (Verdezoto & Bautista, 2017)

3.2.2. Material

- Sustrato
- Jeringuilla 20 mL
- Macetas de 1 l
- Flexómetro
- Materiales de escritorio
- Material de campo

3.2.3. Equipos

- Estufa (Sheilab modelo 1350GX)
- Balanza analítica (Shimadzu modelo UW620H)

3.2.4. Insumos

- Cadmio cloruro hemipentahidratado ($\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 99,99 % ACROS ORGANICS
- Ácido nítrico (HNO_3) 2N
- Agua destilada

3.2.5. Instrumentos

- Vasos de precipitación 200 mL
- Pipeta
- Matraz de aforo de 25 mL

3.3. MÉTODOS

La investigación se realizó en el invernadero de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE”. Se utilizó setenta plantas de *Floscopa robusta*, sesenta de estas plantas se aplicaron diferentes dosis de cadmio por cuatro semanas hasta completar la cantidad que se deseaba probar.

3.3.1. Diseño Experimental

Para el desarrollo del experimento se utilizó el diseño experimental completamente al azar (D.C.A).

3.3.1.1. Factores a probar

En el presente trabajo de investigación se utilizó el siguiente factor:

La aplicación de dosis de cadmio en *Floscopa robusta*.

Para los tratamientos se usó Cadmio cloruro hemipentahidratado ($\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 99,99 %

3.3.1.2. Tratamientos a comparar

Tabla 3. Descripción de los tratamientos a evaluar

Tratamiento	Descripción
T0	Concentración de CdCl ₂ 0 mg kg ⁻¹ (control)
T1	Concentración de CdCl ₂ 2,5 mg kg ⁻¹
T2	Concentración de CdCl ₂ 5 mg kg ⁻¹
T3	Concentración de CdCl ₂ 10 mg kg ⁻¹
T4	Concentración de CdCl ₂ 20 mg kg ⁻¹
T5	Concentración de CdCl ₂ 40 mg kg ⁻¹
T6	Concentración de CdCl ₂ 80 mg kg ⁻¹

FUENTE: Elaboración propia

3.3.1.3. Tipo de diseño

Diseño experimental completamente al azar (D.C.A).

3.3.1.4. Repeticiones

El ensayo contará con diez repeticiones por tratamiento.

3.3.1.5. Características de las UE

Cada unidad experimental se conformó de una planta de *Floscopa robusta*, estas fueron sometidas a diferentes concentraciones de cadmio 0, 2.5, 5, 10, 20, 40 y 80 mg kg⁻¹ respectivamente, con 10 repeticiones de la unidad experimental dando un total de setenta plantas, estas se desarrollaron en macetas de un kilogramo.

Las macetas fueron ubicadas en el invernadero de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE”. Se utilizó como sustrato para las plantas turba orgánica Plankton ideal para enraizar, semilleros y viveros. Esta se obtiene de la formación de turba rubia enriquecida con fuentes de nitrógeno y calcio, es ligeramente acida pH 4,042 a 29,5 °C con alta capacidad de intercambio catiónico, permitiendo retener elementos minerales y liberarlos lentamente, esta puede retener hasta 20 veces su peso en agua.

3.3.1.6. Croquis del diseño

T1R2	T3R3	T2R2	T1R9	T2R3	T0R7	T3R9
T0R4	T0R5	T0R6	T5R4	T6R8	T1R5	T2R8
T4R2	T5R9	T0R2	T3R4	T0R1	T0R3	T5R3
T6R9	T3R1	T3R7	T2R6	T5R8	T0R10	T0R9
T6R5	T6R2	T4R1	T5R6	T1R8	T5R5	T5R1
T3R8	T4R10	T4R8	T4R5	T6R7	T5R2	T4R4
T6R4	T2R5	T4R6	T3R10	T0R8	T1R10	T1R4
T6R1	T6R10	T4R7	T3R2	T1R1	T1R3	T1R7
T1R6	T4R3	T2R7	T2R4	T5R10	T3R6	T2R10
T6R6	T3R5	T2R9	T2R1	T5R7	T6R3	T4R9

3.3.2. Análisis estadístico:

El ensayo se conformó con siete tratamientos, con diez repeticiones, realizando una aplicación de CdCl₂ semanal, por un periodo de cuatro semanas hasta alcanzar la concentración del tratamiento.

3.3.2.1. Esquema del análisis de varianza

Tabla 4 *Análisis de varianza de un diseño en D.C.A.*

Fuente de variación	Formula	Grado de libertad
Tratamientos	t-1	6
Error experimental	(n-1)-(t-1)	63
Total	n-1	69

3.3.2.2. Coeficiente de variación

Para el cálculo del coeficiente de variación se utilizó la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{\sqrt{CM_e}}{X} * 100 =$$

Dónde:

CV = Coeficiente de variación.

CMEE = Cuadrado medio del error experimental.

X = Promedio de tratamiento

3.3.2.3. Análisis funcional

El análisis funcional se lo realizó mediante la aplicación de la prueba de significación de Tukey.

3.3.3. Variables a medir.

3.3.3.1.Determinación de altura.

Se midió desde la base del tallo hasta la yema terminal a los siete días después de la última aplicación de cadmio y cada siete días por cuatro semanas.

3.3.3.2.Determinación de índice de tolerancia (IT).

El índice de tolerancia se calcula después de 65 días de estas expuesta a ClCd_2 con la siguiente formula (Kumar *et al.*, 2008).

$$(\text{IT}) = \frac{\text{Aumento medio de una medida variable asegurada en plantas tratadas}}{\text{Aumento medio de una variable medida en plantas de control}} * 100$$

3.3.3.3.Determinación de materia seca.

Se registró el peso húmedo de los tejidos de las plantas de *Floscopa robusta* parte aérea y parte radical, posteriormente se secó en la estufa y registro el peso seco de cada muestra. Mediante la siguiente formula se determinó el porcentaje de materia seca.

$$\%MS=100*\frac{P_S}{P_H}$$

Donde:

%MS = Porcentaje de materia seca

P_s = Peso seco

P_H = Peso húmedo

3.3.3.4. Determinación de Biodisponibilidad de cadmio.

En la determinación de la biodisponibilidad de Cd en los tejidos de *Floscopa robusta*, se utilizó el método, extracción nítrico - perclórico (HNO₃ – HClO₄) relación 4:2. Para cuantificar el metal se utilizó un espectrómetro de absorción atómica acoplado a horno de grafito (INIAP EET PICHILINGUE, 2019).

3.3.3.5. Determinación de la absorción de cadmio en la planta.

En la determinación de la absorción de Cd por la planta de *Floscopa robusta*, se utilizó el valor de contenidos de Cd encontrados en los tejidos vegetales de las plantas, este se multiplico por el contenido de materia seca de cada tratamiento y este resultado se dividió para 1000 g. A continuación se multiplicó por 1000 para ser expresado en μg del metal/ tratamiento o ppb del metal absorbido por la planta (Cargua, 2010).

3.3.3.6. Determinación de factor de translocación (FT).

El cálculo del factor de translocación se calcula con los contenidos de Cd encontrados en los tejidos vegetales de la planta con la siguiente formula (Das *et al.*, 2014).

$$\text{Factor de translocación (FT)} = \frac{\text{Cadmio en región aérea (mg Kg}^{-1}\text{)}}{\text{Cadmio en región radical (mg Kg}^{-1}\text{)}}$$

La relación de metales pesados en la región aérea a la radical debe ser > 1 en plantas hiperacumuladoras (Garbisu & Alkorta , 2001)

3.3.4. Métodos específicos de manejo del experimento

3.3.4.1. Obtención y preparación del sustrato para el ensayo

Se utilizó 42 kilogramos de turba orgánica Plankton de la casa comercial Comtecpal S.A.

El sustrato se dividió para setenta macetas de un kilogramo, se colocó 600 g de sustrato en cada maceta y se dispuso según el orden que dicta el croquis de la investigación.

3.3.4.2. Obtención y producción de las plantas de *Floscopa robusta*

Se recolectó semillas de *Floscopa robusta* de plantas presentes en cultivos de cacao en la parroquia Luz de América, estas semillas se sometieron a un proceso pre germinativo para acelerar el proceso de germinación de tal manera que la producción de las plantas sea homogénea, el método consiste en colocar las semillas en la estufa a 40 °C por 24 horas y luego con la ayuda de un tamiz coleccionar las semillas, seguido se las colocaron en refrigeración por 24 horas y finalmente fueron sembradas en un semillero. Este proceso fue establecido por (Verdezoto & Bautista, 2017)

3.3.4.3. Manejo de las planta en el invernaderos.

Durante la permanencia de las plantas en el invernadero, fueron regadas alternando un día con el fin de mantener el suelo a capacidad de campo con un 80 a 100 % de humedad. En los primeros días se regó con 35 mL de agua para cada planta, a partir del quinto día se aplicó 75 mL de agua.

3.3.4.4. Preparación y administración de las soluciones de cadmio en suelo

Se utilizó una fracción de 29, 81 mg de cadmio cloruro hemipentahidratado 99% marca ACROS ORGANICS en un litro de agua para obtener una solución de 20 mg/L de cloruro de cadmio está siendo una solución madre para cada aplicación.

Se prepararon soluciones a partir de la solución madre añadiéndose un volumen 250 mL, 125 mL, 62,5 mL, 31,25 mL, 15,625 mL y llevándolos a 500 mL para obtener las siguientes concentraciones 10 mg kg^{-1} , 5 mg kg^{-1} , $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$, $1,25 \text{ mg kg}^{-1}$, $0,625 \text{ mg kg}^{-1}$ respectivamente, que en las cuatro semanas de aplicación sumaran las dosis establecidas en la investigación.

Se realizó una aplicación fraccionada de 20 mL una sola vez durante cuatro semanas, llegando a un volumen final de 80 mL, de la solución de Cd correspondiente, para cada una de las plantas de *Floscopa robusta* (Seub.) C.B. Clarke. Para cada aplicación semanal, se prepararon, un volumen de 500 mL de solución de Cd para cada concentración, como se describe en la tabla 5.

Tabla 5. Soluciones semanales de Cd a diferentes concentraciones.

Concentración $\text{CdCl}_2 \text{ mg kg}^{-1}$ total	Masa de $\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (mg) semanal	Volumen de agua destilada (mL)
2,5	0,93	
5	1,86	500
10	3,73	

20	7,45
40	14,91
80	29,81

El Cadmio cloruro hemipentahidratado ($\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) que se utilizó tiene una pureza del 99,99 %, ACROS ORGANICS

3.3.4.5. Aplicación de tratamientos

Los tratamientos se aplicaron con una jeringuilla de 20 mL para mantener la homogeneidad de la investigación.

3.3.4.6. Colecta de plantas

Después de setenta y cinco días del trasplante, las plantas fueron colectadas y limpiadas con abundante agua, para lavar las raíces se utilizó agua a presión con el fin de eliminar los residuos de tierra y con un tamiz recoger las raíces pequeñas.

Finalmente se terminó la limpieza sumergiendo en una solución de HCl 0,2 M y agua destilada.

3.3.4.7. Manejo de plantas colectadas.

El material vegetal colectado fue pesado en una balanza analítica y colocado en fundas de papel identificadas y secadas en una estufa a 70° hasta que las muestras mantengan un peso constante.

Una vez secas se toma el peso de cada tratamiento, para determinar el porcentaje de la materia seca.

Finalmente las plantas identificadas y secas se almacenaron en un lugar seco y libre de contaminación hasta su análisis.

3.3.4.8. Determinación de las concentraciones de cadmio en la planta

Para la determinación del contenido de Cd se enviaron muestras de tejido vegetal por duplicado de la parte aérea y parte radical, a los laboratorios de INIAP EET PICHILINGUE. Se utilizó el método de extracción nítrico - perclórico ($\text{HNO}_3 - \text{HClO}_4$) relación 4:2. Para cuantificar el metal se utilizó un espectrómetro de absorción atómica acoplado a horno de grafito (INIAP EET PICHILINGUE, 2019)

3.3.4.9. Evaluaciones

La primera evaluación fisiológica de altura se realizó a los siete días después de haber aplicado todos los tratamientos y posteriormente cada siete días; por un total de cuatro semanas.

Se evaluó la tolerancia de *Floscopa robusta*, a diferentes concentraciones de cadmio y se identificó los niveles de toxicidad, de acuerdo a la concentración del metal mg/kg (Tabla 1) y el índice de tolerancia y un análisis de su comportamiento en cuanto al crecimiento en cm

3.3.5. Análisis de datos

Para esto se realizó un análisis de datos con el paquete estadístico InfoStat

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de altura.

Tabla 6 *Análisis de varianza para la variable altura a diferente días en la evaluación de uso potencial de *Floscopa robusta* como agente fitorremediador de cadmio*

Fuentes de variación	Grados de libertad	Altura a los 44 DDS	Altura a los 51 DDS	Altura a los 58 DDS	Altura a los 65 DDS
Dosis	6	0,0529 ns	0,0552 ns	0,0702 ns	0,0688 ns
Error	63				
Total	69				
Coeficiente de variación (%)		16,45	17,5	17,94	16,65

El análisis de varianza de altura no presenta diferencia significativa con un p-valor de 0,0529; 0,0552; 0,0702; 0,0688 en los días 44; 51; 58; 65 respectivamente por lo cual se acepta la hipótesis nula

El coeficiente de variación en la variable altura fue de 16,45; 17,5; 17,94; 16,65; en los días 44; 51; 58; 65 respectivamente, estos se encuentran dentro del rango aceptable.

4.2. Determinación de índice de tolerancia (IT).

Tabla 7. Medias de longitud de parte aérea (altura) a diferentes días e índice de tolerancia en la evaluación de uso potencial de *Floscopa robusta* como agente fitoremediador de cadmio

CdCl ₂	Altura de parte aérea (cm) 44 DDS	Altura de parte aérea (cm) 51 DDS	Altura de parte aérea (cm) 58 DDS	Altura de parte aérea (cm) 65 DDS	Índice de tolerancia (IT) parte aérea (%)
0 mg kg ⁻¹	29,5	33,1	38,8	40,1	-
2,5 mg kg ⁻¹	28,05	31,05	37,35	38,8	96,76
5 mg kg ⁻¹	27,95	30,6	35,5	36	89,78
10 mg kg ⁻¹	26,85	29,85	34,7	36	89,78
20 mg kg ⁻¹	26,2	27,6	32	34,1	85,04
40 mg kg ⁻¹	24,65	27,2	31,9	33,2	82,79
80 mg kg ⁻¹	23,55	26,45	31,85	33,1	82,54

*Indica significancia a $p < 0,05$ a diferentes dosis

La tabla 7 indica que no existe cambios significativos en la altura después 44; 51; 58; 65; días de exposición a ClCd₂. El índice de tolerancia señala que a dosis más bajas de 2,5 mg kg⁻¹ no existe disminución significativa en la altura en comparación con el tratamiento 0 mg kg⁻¹ demostrando tolerancia máxima IT= 96,76% a cadmio, sin embargo a dosis más altas de ClCd₂ de 5 – 80 mg kg⁻¹ causa una disminución mínima progresiva de IT= 89,78 a 82,54%.

Según (Sunayana & Suchismita, 2015), el cadmio inhibe el crecimiento de raíces y brotes, afectando la absorción de nutrientes y homeostasis con frecuencia se acumula en algún órgano,

sin embargo la capacidad de absorción de *Floscopa robusta* aumentó con la exposición a cadmio por su alta tolerancia al cadmio.

La tolerancia implica la absorción de metal y la translocación restringida al brote pero con grandes cantidades de cadmio en las raíces por acumulación del metal, implica captación y almacenamiento del metal en la vacuola para evitar toxicidad (Sekabira, 2010)

4.3. Determinación de materia seca.

Tabla 8 Análisis de varianza para la variable porcentaje de materia seca en la evaluación de uso potencial de *Floscopa robusta* como agente fitoremediador de cadmio

Fuentes de variación	Grados de libertad	Materia seca aérea (%)	Materia seca radical (%)
Dosis	6	0,1025 ns	0,0141*
Error	63		
Total	69		
Coeficiente de variación (%)		15,45	12,36

El análisis de varianza en materia seca radical presenta diferencia significativa con un p-valor de 0.0141, por lo cual se acepta la hipótesis alternativa. A diferencia de la variable de materia seca aérea con un p-valor de 0.1025, siendo este valor mayor que 0.05 que indica que no existe diferencia significativa.

El coeficiente de variación en el variable porcentaje de materia seca radical fue de 12,36%, que se encuentra dentro del rango aceptable

.En la siguiente figura se muestra la prueba de Tukey porcentaje de materia seca en parte radical.

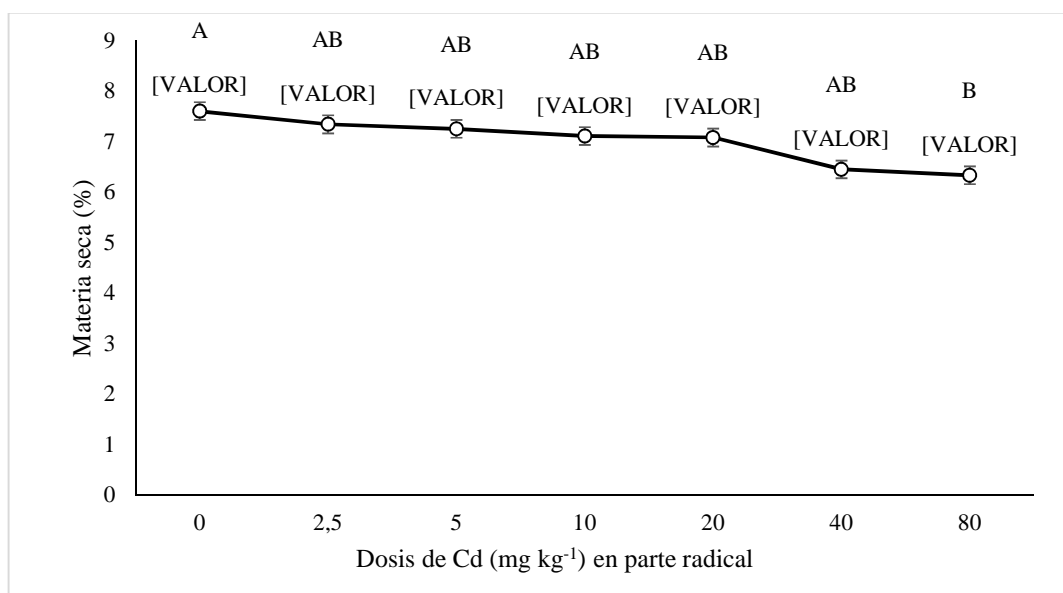


Figura 2 Prueba de Tukey para la variable porcentaje de materia seca en parte radical.

La prueba de Tukey al 5% para la variable porcentaje de materia seca en zona radical, presenta tres rangos de significancia en donde se observa diferencias entre el rango A y B, en el rango A se encuentran los tratamientos con dosis de 0 mg kg⁻¹ que presento el mayor porcentaje de materia seca con un promedio de 7,6 %, en el rango B se encuentran los tratamientos con dosis de 80 mg kg⁻¹ en los que se obtuvo un porcentaje menor de materia seca de 6,33%.

Se observan cambios en el porcentaje de materia seca radical después de la exposición a 0; 2,5; 5; 10; 20; 40; 80; mg kg⁻¹ de CdCl₂ por 65 días disminuyendo de 7.6; 7,34; 7,25; 7,11; 7,08; 6.45; 6,33 % respectivamente lo que demuestra que a mayor concentración de cadmio menor producción de materia seca. Según (Goswami & Das, 2015) la altura de una planta y biomasa de plantas expuestas a cadmio disminuye ya que este retarda el crecimiento, genera clorosis, alteraciones en la planta y con frecuencia el metal pesado se acumula.

4.4. Determinación de Biodisponibilidad de cadmio

Tabla 9 *Análisis de varianza para la variable biodisponibilidad de cadmio en parte aérea en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitorremediador de cadmio*

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	p-valor
DOSIS	22,97	6	3,83	64,24	<0,0001 **
Error	0,42	7	0,06		
Total	23,39	13			

Coefficiente de variación = 8,46 %

El análisis de varianza para la variable biodisponibilidad de cadmio en parte aérea presenta diferencia significativa con un p-valor de 0.0001, por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa. El coeficiente de variación fue de 8.46%, el cual está dentro del rango establecido para investigaciones bajo condiciones semicontroladas.

A continuación se muestra la prueba de Tukey de la variable biodisponibilidad de cadmio en parte aérea

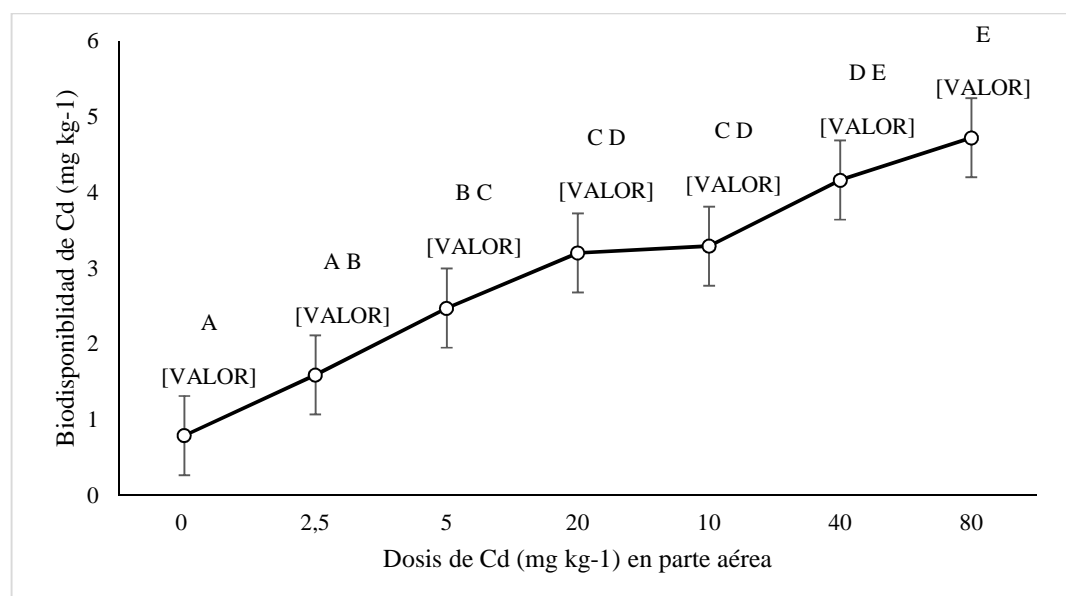


Figura 3. Prueba de Tukey para la variable biodisponibilidad de cadmio en la parte aérea.

En la figura 3 se muestra la prueba de Tukey al 5% donde existió diferencias significativas, con seis rangos de significancia, en donde la menor biodisponibilidad de cadmio lo obtuvo el tratamiento con dosis de 0 mg kg⁻¹ con un promedio de 0,79 mg kg⁻¹ y el tratamiento con dosis de 80 mg kg⁻¹ presentó la mayor biodisponibilidad de cadmio con 4,72 mg kg⁻¹.

En el tratamiento de 80 mg kg⁻¹ CdCl₂ en *Floscopa robusta* esta extrae 4,72 mg kg⁻¹ Cd en la parte aérea. Según (Pugh, 2002) concentraciones de 0,05 – 2 mg kg⁻¹ de Cd es normal y no fitotóxico para la planta, *Floscopa robusta* presenta 4,72 mg kg⁻¹ Cd un nivel superior de

concentración de Cd en la parte aérea sin mostrar señales de toxicidad en parte aérea (tallos y hojas)

Tabla 10 *Análisis de varianza para la variable biodisponibilidad de cadmio en parte radical en la evaluación de uso potencial de Floscopa robusta como agente fitorremediador de cadmio*

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	p-valor
DOSIS	1152,82	6	192,14	404,12	<0,0001 **
Error	3,33	7	0,48		
Total	1156,15	13			

Coefficiente de variación = 6,12%

Como se muestra en la tabla en el análisis de varianza si existe diferencia significativa a nivel de 0,05 %, con un p valor de <0,0001 por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa, con un coeficiente de variación de 6,12% siendo aceptable ya que se encuentra dentro del rango establecido.

En la siguiente figura se muestra la prueba de Tukey en biodisponibilidad de cadmio en parte radical.

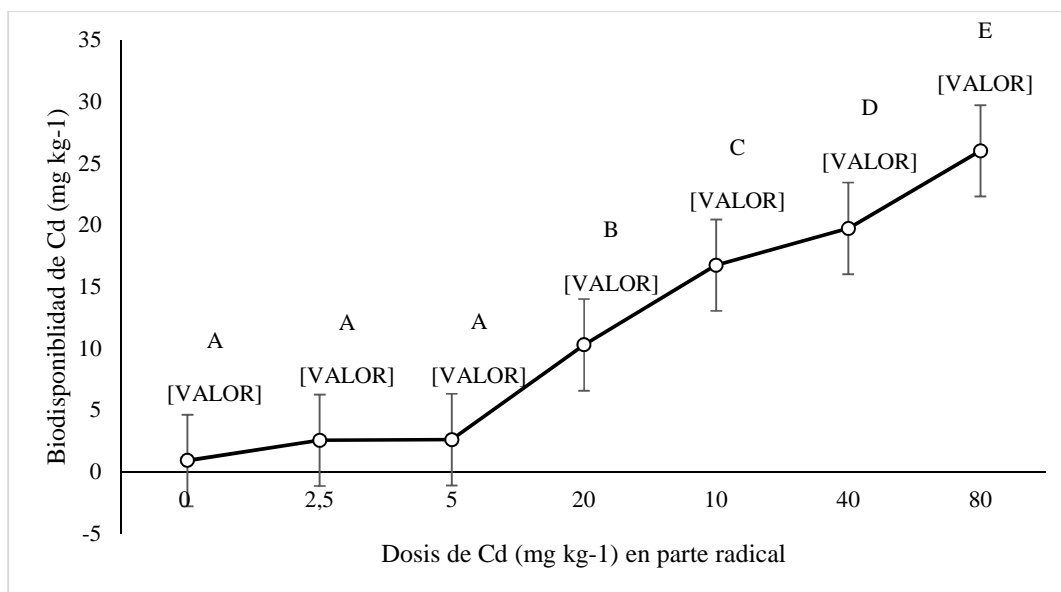


Figura 4 Prueba de Tukey para la variable biodisponibilidad de cadmio en parte radical.

En la figura 4 se muestra la prueba de Tukey al 5% de la variable biodisponibilidad de cadmio en parte radical donde existió diferencias significativas, con cinco rangos de significancia, en donde: el rango A obtuvo la menor biodisponibilidad de cadmio en la parte radical en los tratamientos con dosis de 0; 2,5 y 5 mg kg⁻¹, con valores de 0,94; 2,56 y 5 mg kg⁻¹ respectivamente. El tratamiento con dosis de 80 mg kg⁻¹ presento la mayor biodisponibilidad con 26 mg kg⁻¹, que corresponde al rango de significancia E. El mecanismo de defensa principal que tiene la planta es la raíz que inmoviliza del cadmio por pectinas de la pared celular (Rodríguez & Martínez-de la Casa , 2008). El contenido de cadmio en el tejido vegetal se eleva con el aumento de la concentración, la biodisponibilidad de cadmio en el suelo para la absorción por las raíces de la planta depende de la morfología de la raíz (An, 2004). Según Das *et al.*, (1997) explica que plantas con numerosas raíces delgadas se acumulan más metal que en pocas raíces gruesas con lo

que concuerda con las características de *Floscopa robusta* al tener un sistema radicular con numerosas raíces delgadas.

Según (Pugh, 2002) existen diferentes niveles de concentración de metales pesados en la planta determinando que valores superiores a $7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ son fitotóxicos de esta forma *Floscopa robusta* a una dosis de $80 \text{ mg kg}^{-1} \text{ CdCl}_2$ acumula $26 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$. Las plantas que tienen la estrategia de acumular metal en las raíces, independiente del nivel de contaminación del sustrato se denominan fitoestabilizadoras (Hazrat, 2013).

Altas concentraciones de metal concentrado en las partes de la planta pueden indicar su tolerancia al metal pesado contaminante (Sekabira *et al.*, 2011).

En suelos ecuatorianos dedicados al cultivo de cacao en la región litoral las concentraciones de cadmio en zonas como Esmeraldas llegan a $0,88 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$, en Manabí presenta valores de $2,37 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$, en Guayas los contenidos de cadmio son de $1,65 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$, en el Oro a nivel superficial (5 cm) la concentración es de $2,53 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ y más profundo (20 cm) llegan hasta $240 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ posiblemente por la alta contaminación de esta zona por la quema de plástico; en la región sierra la zona los valores de concentración de Cd se encuentran dentro del límite de $2 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$, en la región oriental a nivel superficial del suelo (5 cm) las concentraciones de cadmio son en Napo, Zamora y Sucumbíos de $1,73$; $1,24$; $1,15 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$, (Mite *et al.*, 2010), teniendo en cuenta esta información *Floscopa robusta* tendría un futuro prometedor como una

planta fitoestabilizadora ya que en la región la mayoría de datos de concentración no sobrepasa 5 mg kg^{-1} Cd.

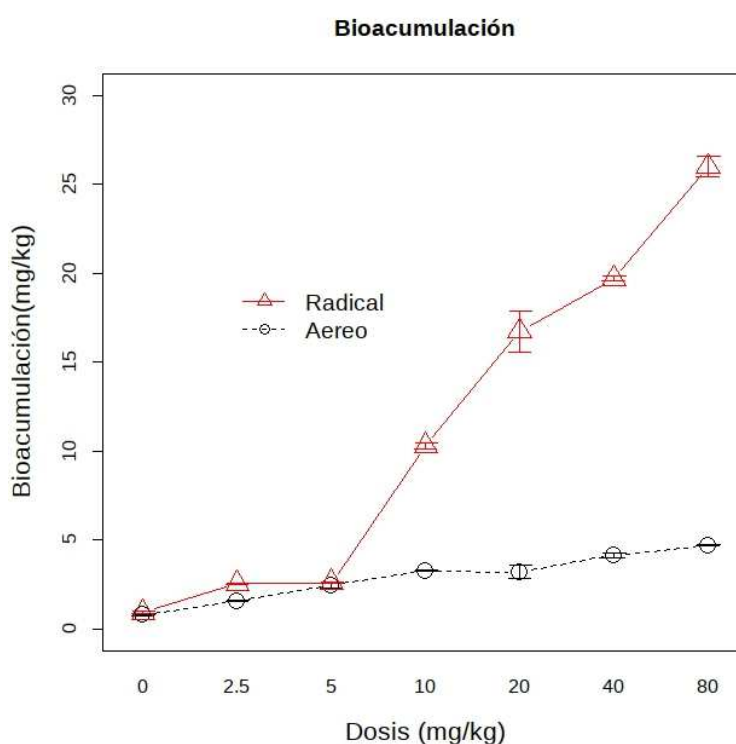


Figura 5 Biodisponibilidad de cadmio en parte radical y aéreo de *Floscopa robusta*

FLO

En la figura 5 se muestra el comportamiento de los tejidos vegetales radical y aéreo dependiendo de la dosis de ClCd_2 , mostrando que tanto para la parte radical y aérea a dosis de 0 a 5 mg kg^{-1} la absorción de Cd es similar, sin embargo a partir de 10 a 80 mg kg^{-1} la absorción de Cd se eleva drásticamente para la parte radical en comparación a la parte aérea que si existe un aumento de absorción de Cd en mínima cantidad. Según (Sekabira *et al.*, 2011) las concentraciones de cadmio en la plantas de *Commelina benghalensis* y *Cynodon dactylon* se

encuentra en mayor proporción en la raíz, seguido por hojas y finalmente tallos. Indica Según (Alkorta *et al.*, 2004) existe una baja movilización del cadmio a través de las raíces, hacia los tallos y hojas, y/o tolerancia con un mecanismo que desarrolla la planta para acumular en las raíces, por este mecanismo ayuda a que exista un menor estrés en la parte aérea

La diferencia en la absorción de raíces y la acumulación en parte aérea se debe a la función de las raíces es adquirir selectivamente iones de la solución del suelo, las plantas tolerantes al cadmio evitan la absorción del exceso de Cd o desintoxicar el cadmio después absorber (Wang, Zou, & Duan, 2007)

Las plantas expuestas a metales pesados conducen a un estrés oxidativo (ROS) y acumulan iones metálicos (M^{+}) resultando en un daño celular, un mecanismo de desintoxicación se basa en quelación y la compartición subcelular. El principal quelante es las fitoquelatinas (PC) que tiene como precursor glutatión reducido (GSH). (PC) Las PC forman complejos con los iones metálicos en el citosol y se transportan a la vacuola. (Heldt & Piechulla, 2010)

El glutatión desintoxica ROS a través del ciclo ascorbato-glutatión. En segundo lugar, el glutatión S-transferasa cataliza la conjugación de GSH con iones metálicos y ayudarlos a secuestrar en vacuola. En tercer lugar, la fitoquelatina sintasa (PCS) también utiliza GSH en la síntesis de fitoquelatinas (Heldt & Piechulla, 2010)

4.5. Determinación de la absorción de cadmio en las plantas

Tabla 11 *Análisis de varianza para la variable absorción de cadmio en parte aérea en la evaluación de uso potencial de *Floscopa robusta* como agente fitorremediador de cadmio*

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	p-valor
DOSIS	0,23	6	0,04	47,83	<0,0001 **
Error	0,01	7	8,10E-04		
Total	0,24	13			

Coefficiente de variación = 9,89%

El análisis de varianza de la variable absorción de cadmio en parte aérea presenta diferencia significativa con un p-valor de <0.0001, por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa. El coeficiente de variación fue de 9.89%, el cual es aceptable ya que se encuentra dentro del rango establecido.

A continuación se muestra la prueba de Tukey de la variable la absorción de cadmio.

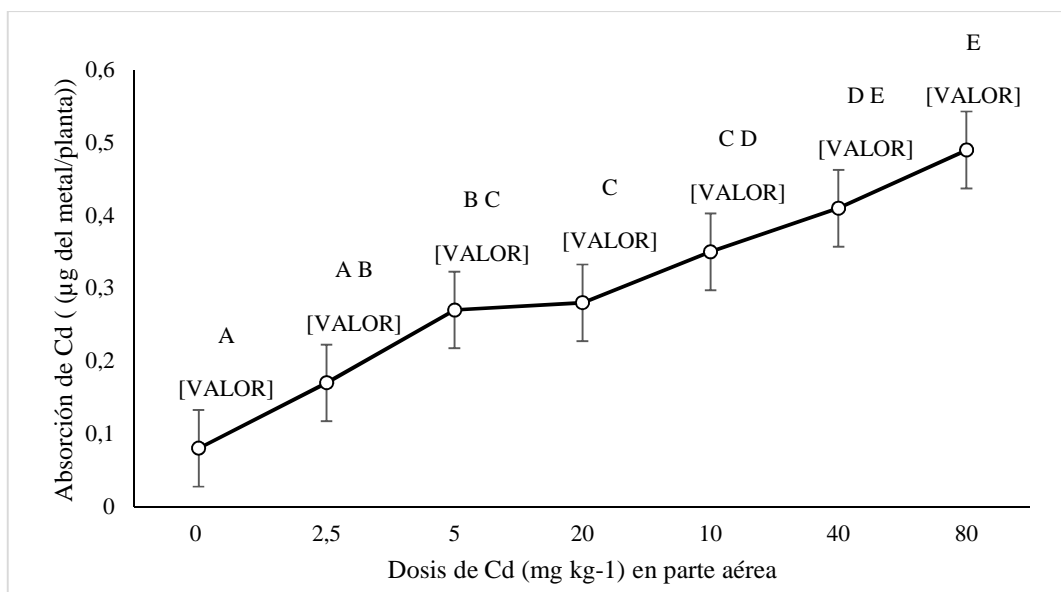


Figura 6 Prueba de Tukey para la variable absorción de cadmio en parte aérea.

La prueba de Tukey al 5% para la variable absorción de cadmio en parte aérea, presenta siete rangos de significancia, en donde el tratamiento con una dosis de 10 mg kg⁻¹ mostró los valores más bajos en cuanto a absorción de cadmio perteneciendo al rango A con un promedio de 0,08 µg del metal/planta, los valores más altos los obtuvo el tratamiento con dosis de 80 mg kg⁻¹ presentando el valor más alto con 0,49 µg del metal/planta.

Tabla 12 *Análisis de varianza para la variable absorción de cadmio en parte radical en la evaluación de uso potencial de *Floscopa robusta* como agente fitoremediador de cadmio*

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculado	p-valor
DOSIS	5,94	6	0,99	98,4	<0,0001 **
Error	0,07	7	0,01		
Total	6,01	13			

Coeficiente de variación = 12,93%

El análisis de varianza en absorción de cadmio en la parte radical presenta diferencia significativa con un p-valor de <0.0001, por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa. El coeficiente de variación fue de 12.93%, el cual es aceptable ya que se encuentra dentro del rango establecido.

A continuación se muestra la prueba de Tukey de la variable absorción de cadmio en parte radical.

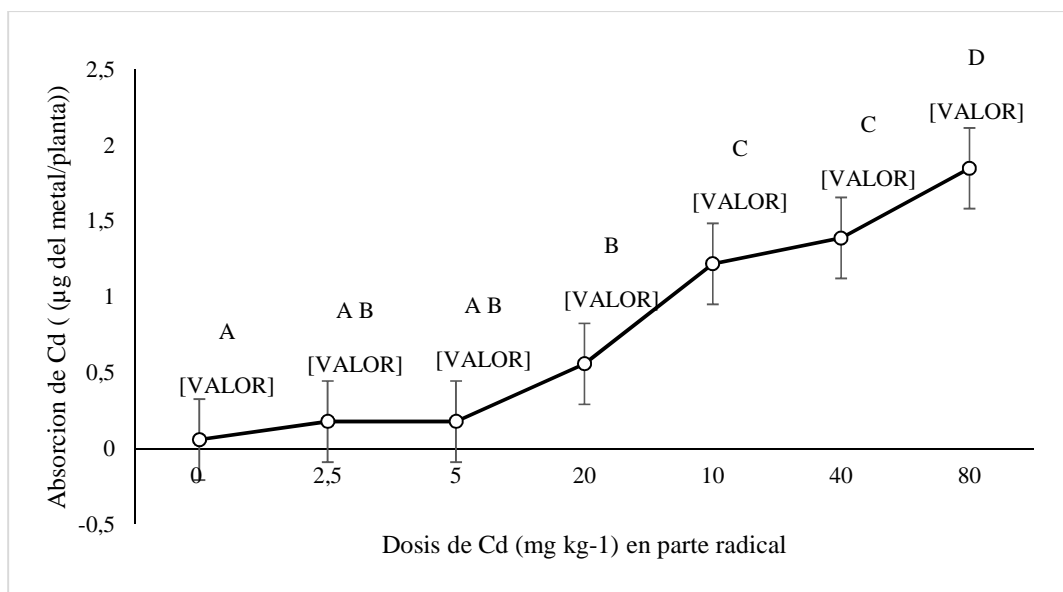


Figura 7 Prueba de Tukey para la variable absorción de cadmio en parte radical

En la figura 7 se muestra la prueba de Tukey al 5% donde existió diferencias significativas, con cinco rangos de significancia, en donde el rango A mostró la menor absorción de cadmio en el tratamiento con dosis de 0 mg kg⁻¹, con un promedio de 0.06 µg del metal/planta. El tratamiento con dosis de 80 mg kg⁻¹ presentó la mayor absorción de cadmio con 80 µg del metal/planta, que corresponde al rango de significancia D.

4.6. Determinación de factor de translocación (FT).

Tabla 13 Medias de concentraciones de Cd en diferentes partes de la planta (radical y aérea) y factor de translocación en la evaluación de uso potencial de *Floscopa robusta* como agente fitorremediador de cadmio

CdCl ₂	Concentración de Cd parte radical (mgkg ⁻¹)	Concentración de Cd en parte aérea (mg kg ⁻¹)	Concentración de Cd en parte radical (µg del metal/planta)	Concentración de Cd en parte aérea (µg del metal/planta)	Concentración de Cd total en la planta (µg Cd/planta)	Factor de translocación (TF)
2,5 mg kg ⁻¹	2,56*	1,59ab	0,18	0,17	0,35	0,62
5 mg kg ⁻¹	2,62*	2,47bc	0,18	0,27	0,45	0,94
10 mg kg ⁻¹	10,3b	3,2cd	0,56	0,28	0,84	0,31
20 mg kg ⁻¹	16,74c	3,29cd	1,22	0,35	1,57	0,2
40 mg kg ⁻¹	19,72d	4,16de	1,39	0,41	1,79	0,21
80 mg kg ⁻¹	26e	4,72e	1,85	0,49	2,34	0,18

* Indica significancia a $p < 0,05$ a diferentes dosis para un tejido vegetal concreto; b, c, d, e, indican diferencia significativa en $p < 0,05$ para un tejido vegetal a dosis concretas

La tabla 13 indica las los rango de acumulación de Cd en la región radical y aérea de *Floscopa robusta* expuesta por 65 días a diferentes dosis de CdCl₂. Presenta que todas las dosis de exposición a cadmio en región aérea y radical se acumulan; según (Beker *et al.*, 2000) en una planta hiperacumuladora califica como tal, si su concentración es $> 100 \mu\text{g g}^{-1}$ (0,01%), *Floscopa robusta* no califica como hiperacumuladora ya que su máxima acumulación se da en la región radical con $1,85 \mu\text{g Cd/planta}$ y en la región aérea es de $0,49 \mu\text{g Cd/planta}$ a una dosis de exposición de 80 mg kg^{-1} .

El factor de translocación (TF) para cadmio es la relación de concentración de metales pesado (Cd) en la parte aérea a la parte radical de la planta, si el TF es > 1 se considera hiperacumuladora (Garbisu & Alkorta , 2001). El TF para las diferentes dosis de Cd es < 1 , lo que demuestra la raíz obstaculiza el movimiento hacia región aérea, la planta tiene una estrategia de exclusión para evitar stress en las partes de tallos y hojas (Beker, J.A.C. , & Reeves, 2000)

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

- De los análisis realizados se pudo determinar que las plantas analizadas presentan bioacumulación de cadmio
- *Floscopa robusta* es capaz de absorber concentraciones de $4.72 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$ en la parte aérea y acumula $26 \text{ mg kg}^{-1} \text{ Cd}$. en la parte radical con una aplicación de $80 \text{ mg kg}^{-1} \text{ CdCl}_2$ en el sustrato, sin mostrar síntomas de toxicidad en la parte aérea, determinando su alta tolerancia al Cd.
- La biodisponibilidad de cadmio en tejidos vegetales aumento con el aumento de la concentración de cadmio sugiriendo que la planta es buena candidata como fitoestabilizadora del cadmio ya que acumula el cadmio en las raíces y tiene una baja translocación a la parte aérea (tallos y hojas)
- El uso de *Floscopa robusta* como fitoestabilizadora es una herramienta válida y ventajosa en grandes áreas y con poco financiamiento para la utilización de otra tecnología de

remediación ambiental, porque es una planta propia de la región, además es innecesario extraer la planta del sitio ya que al mantenerla el Cd se encuentra estable en la planta y poco disponible para otras plantas de uso alimenticio para animales y el ser humano.

- A diferencia de otras técnicas de fitorremediación, la fitoestabilización no está destinada a eliminar el metal contaminante de un sitio, sino más bien para estabilizarlos por acumulación en las raíces o precipitación dentro de la zona radicular, reduciendo el riesgo para la salud humana y el ambiente

5.2. Recomendaciones

- Sería importante realizar una investigación a nivel de campo en suelos donde exista niveles de cadmio elevado ya que los resultados son prometedores mostrando ser una planta fitoestabilizadora
- Se sugiere un estudio más profundo del comportamiento de *Floscopa robusta*, como una planta acumuladora de Cd con dosis de CdCl₂ más elevadas para determinar niveles de plantas hiperacumuladoras
- Para investigaciones a futuro para fitoremediación de Cd se sugiere tener relaciones más estrechas con entidades públicas o privadas con el objetivo de tener financiamiento ya que los análisis son costosos.

BIBLIOGRAFÍA.

Alkorta , I., Hernández, J., & Becerril, J. (2004). Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc and cadmium and arsenic. *Environ. Sci. Bio/Technology*, 71-90.

An, Y.-J. (2004). Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. *ELSEVIER*, 21-26.

Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/9054558_Soil_ecotoxicity_assessment_using_cadmium_sensitive_plants

Baker , A. J., & Proctor, J. (1990). The influence of cadmium, copper, lead and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. . *Plant Systematics and Evolution*, 91-108.

Beker, A., J.A.C. , S., & Reeves, R. (2000). Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. *ResearchGate*, 643-654.

Cargua, J. (Mayo de 2010). *Determinación de las formas de Cd, Cu, Ni, Pb y Zn y su biodisponibilidad en suelos agrícolas del litoral ecuatoriano*. Obtenido de <https://books.google.com.ec/books?id=CLIZAQAAAJ&pg=PA3&dq=Determinaci%C3%B3n+de+las+formas+de+Cu,+Cd,+Ni,+Pb+Y+Zn+y+su+...&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi8pb7E64HnAhXMqFkKHcecDBUQ6AEIKDAA#v=onepage&q=Determinaci%C3%B3n%20de%20las%20formas%20de%20Cu%2C%20Cd%2C%2>

- Clemens , S., Palmgren , M., & Krämer , P. A. (2002). Long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant* , 309-315.
- Clemens, S. (2006). Evolution and function of phytochelatin Synthases. *Plant Physiol.*, 319-332.
- Das, P., Samantaray, S., & Rout, G. (1997). Studies on cadmium toxicity in plants: a review. . *Environ Pollut.* 98, 29.36.
- Das, S., Goswami , S., & Das Talukdar , A. (2014). study on cadmium phytoremediation potential of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. Bull. *Env Contam Toxicol*, 169-174.
- Di Toppi , L. S., & Gabbrielli , R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Exp. Bot.*, 105-130.
- Diez, F. J. (2008). Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados. Evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas. *Universidad Santiago de Compostela, España*, 331.
- Eapen, S., Singh , S., & D'Souza , S. (2007). Advances in development of transgenic plants for remediation of xenobiotic pollutants. *BiotechnolAdv*, 442-451.
- FAO. (2018). *PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS*. Obtenido de http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-12%252FREPORT%252520%2528FINAL%2529%252FREP18_CFs.pdf

FAO. (3 de Mayo de 2019). *DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE EL DESARROLLO DE UN CÓDIGO DE PRÁCTICAS PARA LA PREVENCIÓN Y REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR CADMIO EN EL CACAO*. Obtenido de DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE EL DESARROLLO DE UN CÓDIGO DE PRÁCTICAS PARA LA PREVENCIÓN Y REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR CADMIO EN EL CACAO: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FMeetings%252FCX-735-13%252FWDs%252Fcf13_12s.pdf

Garbisu , C., & Alkorta , I. (2001). Phytoextraction: A cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *BioresourTechno*, 229-236.

Garcia, I., & Dorronsoro, C. (2005). *Contaminación por Metales Pesados*. En *Tecnología de Suelos*. Obtenido de <http://edafologia.ugr.es/desconta/index.htm>

González, J. (19 de Febrero de 2009). *Flora Digital de la Selva*. Obtenido de sura.ots.ac.cr: <https://sura.ots.ac.cr/local/florula4/families/COMMELINACEAE.pdf>

Goswami, S., & Das, S. (2015). A Study on Cadmium Phytoremediation Potential of Indian Mustard, *Brassica juncea*. *International Journal of Phytoremediation*, 583-588.

Hazrat , A. (2013). Phytoremediation of heavy metals concepts and applications. *Chemosphere*, 869-881.

Heldt, H., & Piechulla, B. (2010). Plant Biochemistry. *Göttingen and Rostock*, 330-332.

INIAP EET PICHILINGUE. (2019). *RESULTADOS DE ANALISI ESPECIAL DE CADMIO EN TEJIDO VEGETAL*. QUEVEDO: ESTACION EXPERIMENTAL PICHILINGUE.

- Intawongse, M., & Dean, J. (2006). Uptake of heavy metals by vegetable plants grown on contaminated soil and their bioavailability in the human gastrointestinal tract; . *Food Additives and Contaminants*, 36-48.
- Jara, E., Gomez, J., Montoya, H., & Chanco, M. (Octubre de 2014). Capacidad fitorremediadora de cinco especies altoandinas de suelos contaminados con metales pesados. *Revista Peruana de Biología*, 145-154. Obtenido de <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/9817>
- Krämer , U., Talke , I., & Hanikenne, M. (2007). Transition metal transport. *FEBS*, 63-72.
- Kumar, G., Yadav, S., & Thawale, P. (2008). Growth of *Jatropha curcus* on heavy metal contaminated soil amended with industrial wastes and *Azotobacter* – a greenhouse study. *Bioresour Technol*, 2078-2082.
- Martin, C. (2000). Heavy Metals Trends in Floodplain Sediments and Valley Fill. *Catena*, 53-68.
- Martínez, K. (21 de Enero de 2013). Cadmio: efectos sobre la salud. Respuesta celular y molecular. *Scielo.org*, 33-49. Obtenido de <http://www.scielo.org.ar/pdf/ata/v21n1/v21n1a04.pdf>
- Mite, F., Manuel Carrillo, & Durango, W. (2010). AVANCES DEL MONITOREO DE PRESENCIA DE CADMIO EN ALMENDRAS DE CACAO, SUELOS Y AGUAS EN ECUADOR. *XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo* , 1-21.
- Padmavathiamma , P. (2007). Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation. *Springer Science + Business Media B.V. 2007*, 105-126.

- Pernía, B., De Sousa, A., Reyes, R., & Castrillo, M. (Febrero de 2008). Biomarcadores de contaminación por cadmio en las plantas. *redalyc.org*, 112-119. Obtenido de *redalyc.org*: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33933205>
- Pugh, R. (2002). Heavy Metal (Pb, Zn, Cd, Fe, and Cu) Contents of Plant Foliage near the Anvil Range Lead/Zinc Mine, Faro, Yukon Territory. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 273–279.
- Rodriguez, M., Martinez de la Casa, N., Romero , M., del Rio, L., & Sandalio , L. (17 de Septiembre de 2008). Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Ecosistemas Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente*, 139-146. Obtenido de <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/409>
- Rodríguez, M., & Martínez-de la Casa , N. (2008). Toxicidad del Cadmio en Plantas. *Ecosistemas*, 139-146.
- Sekabira, K. (2010). Assessment of heavy metal pollution in the urban stream sediments and its tributaries. *Environ. Sci*, 506-516.
- Sekabira, K., Oryem , H., Mutumba, G., & Kakudidi, E. (2011). Heavy metal phytoremediation by *Commelina benghalensis* (L) and *Cynodon dactylon* (L) growing in Urban stream sediments. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry Vol. 3(8)*, 133-142.
- Servellón, D. (Noviembre de 2011). “*BIOPROSPECCIÓN DE PLANTAS METALÓFITAS/PSEUDOMETALÓFITAS EN ZONAS MINERAS DE EL SALVADOR*”. Obtenido de *ri.ues.edu.sv*: <http://ri.ues.edu.sv/8774/2/19200927.pdf>

- Spain, A. (2003). . Implications Of Microbial Heavy Metals Tolerance in the Environment. *Reviews In Undergraduate Research*, 1-6.
- Sunayana, G., & Suchismita, D. (2015). A Study on Cadmium Phytoremediation Potential of Indian Mustard, *Brassica juncea*. *International Journal of Phytoremediation*, 583-588.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. (2018). *www.tropicos.org*. Obtenido de tropicos.org: <http://www.tropicos.org/Name/8300363>
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. (2018). *www.tropicos.org*. Obtenido de tropicos.org: <http://www.tropicos.org/Name/8300363?tab=distribution>
- Truua, J., Truu, M., & Espenberg, M. (2015). Phytoremediation And Plant-Assisted Bioremediation In Soil And Treatment Wetlands: A Review. *Bentham Open*, 0-16.
- Verdezoto, R., & Bautista, L. (2017). Determinación de la dosis optima de glifosato y glufosinato para el control de *Floscopa robusta* (Seub.) C.B. Clarke. *Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE"*, 1-51.
- Vig, K., Megharaj, J., Sethunthan, N., & Naidu, R. (2003). Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review. *Advances in Environmental Research*, 121-135.
- Wang, M., Zou, J., & Duan, X. (2007). Cadmium accumulation and its eVects on metal uptake. *Bioresource Technology*, 82-88.
- Wójcik, M., & Tukiendorf, A. (2004). Phytochelatin synthesis and cadmium localization in wild type of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regulation*, 71-80.