

**DETERMINACIÓN DE LA ACUMULACIÓN DE LOS METALES PESADOS  
PLOMO, CADMIO Y CROMO EN LA PLANTA *Pistia stratiotes* CONOCIDA COMO  
LECHUGA DE AGUA**

**CAROLINA AGUAYO GIRÓN**

**Universidad Icesi  
Facultad de Ciencias Naturales  
Química Farmacéutica  
Santiago de Cali  
2015**

**DETERMINACIÓN DE LA ACUMULACIÓN DE LOS METALES PESADOS  
PLOMO, CADMIO Y CROMO EN LA PLANTA *Pistia stratiotes* CONOCIDA COMO  
LECHUGA DE AGUA**

**Carolina Aguayo Girón**

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE PREGRADO EN  
QUÍMICA FARMACÉUTICA**

**Tutor del proyecto de investigación:  
Dr. Aram Joel Panay Escobar**

**Universidad Icesi  
Facultad de Ciencias Naturales  
Química Farmacéutica  
Santiago de Cali  
2015**

**APROBADO POR**

---

(Nombre correspondiente)  
Evaluador

---

(Nombre correspondiente)  
Evaluador

---

Dr. Aram Joel Panay Escobar  
Director del Proyecto

---

(Nombre correspondiente)  
Co- Director del Proyecto

**Santiago de Cali, 05 de Junio de 2015**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco principalmente a Dios por haber llenado mi vida de salud, sabiduría y fuerza para lograr culminar este gran logro de mi vida. También agradezco a mi familia por su apoyo incondicional, por ser la principal motivación de mi vida y mis ganas de salir adelante.

A mi tutor Aram Joel Panay por su gran esfuerzo y dedicación, por brindarme sus orientaciones, conocimientos y paciencia para lograr terminar con este proyecto.

Por último a la Universidad Icesi por dejar formarme tanto personal como profesionalmente, brindándome todo lo necesario para poder ser la persona que ahora soy.

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
RESUMEN DEL PROYECTO.....	9
1. INTRODUCCION.....	11
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.....	13
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
2.2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.....	15
2.3 OBJETIVOS.....	21
Generales.....	21
Específicos.....	21
2.4 METODOLOGÍA.....	22
Crecimiento de hojas, raíz e hijas.....	22
Cantidad mínima de agua.....	23
Crecimiento en presencia de metales.....	23
Lectura de metales pesados... ..	24
2.5 RESULTADOS.....	27
2.6 DISCUSION.....	37
2.7 CONCLUSIONES.....	45
2.8 RECOMENDACIONES.....	46
2.9 BIBLIOGRAFIA.....	47
2.10 ANEXOS.....	50

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Niveles máximos recomendables de metales pesados en alimentos animales.....	17
Tabla 2. Volúmenes de las soluciones de metales pesados a diferentes concentraciones, utilizados para el estudio del crecimiento de <i>Pistia stratiotes</i> en presencia de Cadmio, Cromo y Plomo. ....	22
Tabla 3. Tiempos de digestión completa de las muestras .....	23
Tabla 4. Resultados obtenidos del crecimiento de raíz, numero de hijas e hojas. .	26
Tabla 5. Crecimiento de las raíces de <i>Pistia stratiotes</i> en diferentes volúmenes de agua.....	28
Tabla 6. Resultados obtenidos del crecimiento de la raíz de <i>Pistia stratiotes</i> en diferentes concentración de cromo. ....	28
Tabla 7. Resultados obtenidos del crecimiento de la raíz de <i>Pistia stratiotes</i> en diferentes concentración de plomo. ....	29
Tabla 8. Resultados obtenidos del crecimiento de la raíz de <i>Pistia stratiotes</i> en diferentes concentración de Cadmio.....	29
Tabla 9. Concentración obtenida de plomo en los diferentes órganos de la planta .....	33
Tabla 10. Concentración obtenida de Cromo en los diferentes órganos de la planta .....	33
Tabla 11. Concentración obtenida de Cadmio en los diferentes órganos de la planta .....	33
Tabla 12. Contenido de plomo en los diferentes órganos de <i>Pistia stratiotes</i> .....	33
Tabla 13. Contenido de cromo en los diferentes órganos de <i>Pistia stratiotes</i> .....	34
Tabla 14. Contenido de cadmio en los diferentes órganos de <i>Pistia stratiotes</i> .....	34

## LISTA DE FIGURAS

### Página

Figura 1. Ilustración de <i>Pistia stratiotes</i> .....	17
Figura 2. Componentes de un Espectrofotómetro de Absorción Atómica.....	19
Figura 3. Estanque donde se extrajeron las muestras de <i>Pistia stratiotes</i> , ubicado en la casa SAE de la Universidad Icesi.....	20
Figura 4. Pecera ubicada en el vivero.....	25
Figura 5. A. Planta en casa de malla. B. Planta en el vivero.....	26
Figura 6. Montaje experimental para determinar el volumen mínimo de agua donde se da un crecimiento óptimo de <i>Pistia stratiotes</i> .....	27
Figura 7. Plantas 180mL-3 (Izq) y 200mL-1 (Der).....	27
Figura 8. A. <i>Pistia stratiotes</i> en presencia de Cromo. B. <i>Pistia stratiotes</i> en presencia de Cadmio. C. <i>Pistia stratiotes</i> en presencia de Plomo.....	30
Figura 9. Hoja de <i>Pistia stratiotes</i> en contacto con solución de metal de cromo a 3ppm.....	30
Figura 10 Crecimiento de raíz. A. <i>Pistia stratiotes</i> solución de cromo a 1ppm. B. <i>Pistia stratiotes</i> solución de cromo a 3ppm.....	31
Figura 11. Crecimiento de raíz. A. <i>Pistia stratiotes</i> solución de plomo a 5ppm. B. <i>Pistia stratiotes</i> solución de plomo a 3ppm.....	31
Figura 12. Crecimiento de raíz. A. <i>Pistia stratiotes</i> solución de Cadmio a 0.5ppm. B. <i>Pistia stratiotes</i> solución de Cadmio a 3ppm.....	32
Figura 13. Partes de <i>Pistia stratiotes</i> . A. Hojas. B. Raíces. C. Tallo.....	32
Figura 14. <i>Pistia stratiotes</i> en bandejas de aluminio para posterior secado.....	33

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Página</b>
Anexo 1. Curva de Calibración de Cromo .....	50
Anexo 2. Curva de Calibración de Plomo .....	51
Anexo 3. Curva de Calibración de Cadmio .....	51
Anexo 4. Análisis estadístico.....	52

## RESUMEN

Pese a que Colombia es uno de los países con mayor oferta hídrica en el mundo, se calcula, según el Ministerio del Medio Ambiente, que la mitad de los recursos hídricos tienen problemas de calidad. Entre los componentes que disminuyen la calidad del agua, se encuentran contaminantes como los metales pesados. Una posible alternativa para mejorar la calidad del agua es la fitorremediación. La planta invasora *Pistia stratiotes* causa daños al sistema acuático en el que se encuentre, ya que evita el paso de luz y oxígeno. En este trabajo se logró determinar acumulación de metales pesados; Cromo, Cadmio y Plomo en *Pistia stratiotes*. Para esto, se implementó un modelo experimental, en el cual se estudió el crecimiento de la planta en un medio donde se conocían las concentraciones de los metales pesados a investigar. Se utilizó un equipo de absorción atómica con el fin de medir la cantidad de metales pesados acumulados en los distintos órganos de la planta: Hojas, tallo y raíz, como resultado se encontró que el contenido de plomo fue de 500.698 en hojas, 2800.211 en tallo y 140.955 en raíces, el contenido de Cromo fue de 88.432 en hojas, 640.061 en tallo y 24.294 en raíces y por último el contenido de Cadmio fue de 42.217 en hojas, 685.597 en tallo y 32.289 en raíces. Todos los valores anteriores se encuentran en unidades de microgramos por gramo. Además se logró comprobar que los metales pesados en concentraciones de 0.5ppm, 1ppm, 3ppm, 5ppm, y 7 ppm alteran el crecimiento de *Pistia stratiotes* sin producirle daños letales. Se propone que *Pistia stratiotes* se puede utilizar como una alternativa de fitorremediación para la contaminación de metales pesados y además, se concluye que se debe evaluar su uso como fuente de alimentación para el ganado.

**Palabras claves:** *Pistia stratiotes*, metales pesados, Cromo, Plomo, Cadmio, ganado, fitorremediación.

## ABSTRACT

Despite the fact that Colombia is one of the countries with greater water supply in the world, is calculated, according to the Ministry of the environment, that half of the water resources have quality problems. Components that decrease the quality of the water, include pollutants such as heavy metals. A possible alternative to improve the quality of the water is phytoremediation. The invasive plant, *Pistia stratiotes* causes damage to the aquatic system that is, since it prevents the passage of light and oxygen. In this work was to determine accumulation of heavy metals; Chromium, cadmium and lead on *Pistia stratiotes*. For this, we implemented an experimental model, in which we studied the plant growth in an environment where the concentrations of heavy metals were known to investigate. We used a team of atomic absorption in order to measure the amount of heavy metals accumulated in the various organs of the plant: leaves, stems and roots, as result we found that the lead content was of 10.02 in leaves, stem and 10.46 in roots, 1.63 chrome content was 1.76 in leaves, 0.18 in stem and 0.83 in roots and finally the content of cadmium

was 0.89 in leaves 0.03 in stem and 0.46 in roots. All the above values are in units of parts per million (ppm) per gram of plant material. Also managed to verify that heavy metals in 0.5ppm, 1 ppm 3 ppm, 5 ppm and 7 ppm concentrations alter the growth of *Pistia stratiotes* without lethal damage. It is proposed that *Pistia stratiotes* can be used as an alternative of phytoremediation for heavy metal contamination and in addition, it is concluded that its use as a source of food for livestock should be evaluated.

**Keywords:** *Pistia stratiotes*, heavy metals, chrome, lead, cadmium, won, phytoremediation.

## 1. INTRODUCCION

Contaminación del agua se denomina a cualquier alteración de las características organolépticas, físicas, químicas, radiactivas y microbiológicas, como resultado de las actividades humanas o procesos naturales. La contaminación hídrica se lleva a cabo por vertimientos, derrames, desechos y depósitos directos o indirectos de toda clase de materiales y en general todo hecho susceptible de provocar un incremento de la degradación de la calidad del agua, modificando sus características físicas, químicas o bacteriológicas. El origen de la contaminación hídrica debida a los vertimientos líquidos o aguas residuales está asociado directamente con la actividad del hombre, es claro que las especies vegetales y animales no generan vertimientos líquidos en cantidades que pudieran afectar el ecosistema natural. El hombre genera aguas residuales que pueden ser clasificadas como de origen doméstico, industrial o agrícola. A estos tipos de residuos se suman las aguas lluvias, que pueden clasificarse como agua residual dependiendo de la zona donde se origine. Uno de los principales contaminantes del agua son las sustancias químicas inorgánicas como los ácidos, compuestos de metales tóxicos, envenenan el agua. Los nutrientes vegetales también pueden ocasionar el crecimiento excesivo de plantas acuáticas que después mueren y se descomponen, agotando el oxígeno del agua y de este modo causan la muerte de las especies marinas (Eutrofización) (Segura, 2007).

A nivel mundial, diferentes tecnologías han sido evaluadas para el tratamiento de aguas contaminadas, pero no obstante el uso de tratamiento fisicoquímicos donde se emplea carbón activado, microorganismos, sustancias químicas, aire y otros, implican costos relativamente altos de inversión y operación que dificultan su aplicación. La fitorremediación es una alternativa emergente, que representa un menor costo-efectivo, posee ventajas estéticas, captura gases efecto invernadero, no requiere de una fuente de energía diferente a la solar y tiene gran aplicabilidad bajo diferentes rangos de concentración de contaminantes. La fitorremediación se basa entonces, en el uso de plantas y su interacción con los microorganismos, con el fin de remover, transformar, secuestrar o degradar sustancias contaminantes contenidas en los suelos, sedimentos, aguas superficiales y subterráneas; es por eso que los humedales construidos han sido ampliamente utilizados para el tratamiento de aguas contaminadas con compuestos orgánicos e inorgánicos de compleja degradación (Vargas, 2011).

Se han identificado una amplia diversidad de especies que se emplean para este fin. Algunas de ellas, debido a su gran capacidad para acumular metales pesados, reciben el nombre de hiperacumuladoras. Entre las cuales se encuentra la especie *Pistia stratiotes*.

*Pistia stratiotes* se encuentra distribuida en toda América tropical. Es una planta que se considera invasiva gracias a su rápido crecimiento, cubriendo cuerpos de

agua (estanques, reservorios de agua, lagos, etc.), y matando a las plantas sumergidas al impedir el paso de la luz solar y el intercambio de oxígeno. Modifica el medio ambiente de los peces, y causa problemas a los animales que se arriman a beber. La principal dificultad de control es que al tratarse de una especie invasora en el medio acuático, su control suele ser muy costoso debido a los costos de operación para la remoción de la misma.

A pesar de las coberturas naturales de *Pistia stratiotes* sirven de protección a las larvas de animales, como por ejemplo los peces, e indirectamente como alimento debido al perifiton que se adhiere en sus raíces, su excesiva cobertura crea problemas ecológicos negativos entre los que se destacan: eutrofización, sedimentación y proliferación de insectos dañinos a la salud. Sin embargo, la biomasa de esta cobertura puede ser usada en la producción de forraje, biogas y para el tratamiento de aguas residuales. A nivel mundial son escasas las informaciones sobre el valor nutritivo de *Pistia stratiotes*, por lo que el conocimiento de sus ventajas potenciales podría despertar interés para su estudio en la alimentación animal (Rodríguez, 2000).

La presente investigación fue desarrollada en las instalaciones de la Universidad Icesi y la Universidad del Valle, con el objetivo de evaluar la capacidad que posee *Pistia stratiotes* para acumular los metales pesado: Cadmio, Cromo y Plomo, como una alternativa de fitorremediación para reducir el contenido de estos contaminantes inorgánicos de las aguas y además para evaluar desde el punto de vista de su posible toxicidad su uso como alimento para ganado.

## 2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

### 2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aunque Colombia por su localización geográfica, su orografía y su gran variedad de regímenes climáticos se ubica entre los países con mayor riqueza en recursos hídricos en el mundo, se ha disminuido la calidad del agua con el paso de los años debido a diferentes contaminantes que recaen sobre ella ((PNUE), 2010).

El río Cauca en el Departamento del Valle del Cauca presenta un tramo crítico que va desde Puerto Isaac (Yumbo) hasta Mediacanoa (Yotoco). En este tramo el río recibe los impactos del área del Departamento que concentra las actividades económicas más relevantes: zona industrial Cali –Yumbo–, agroindustria de la caña y el mayor volumen de población correspondiente a la ciudad de Santiago de Cali y su región metropolitana. Varios tributarios del río Cauca tales como los ríos Yumbo, Cali, Amaime, La Paila, Guachal y Jamundí presentan tramos críticos por niveles bajos de oxígeno disuelto. A partir de allí, recibe las aguas del río La Vieja, el San Juan en Antioquia y más abajo las del Porce que trae las aguas contaminadas del Medellín para luego desembocar al Magdalena (Mira, 2006).

La contaminación natural del agua se debe a procesos producidos de forma inevitable por las fuerzas de la naturaleza. Por ejemplo, una erupción volcánica, una gran tormenta, la descomposición de materia orgánica de un pantano, etc., la contaminación humana es la verdadera preocupación, pues es capaz de transformar totalmente los medios acuáticos. Entre los contaminantes más peligrosos que se pueden encontrar en el agua se encuentran los metales pesados. Los efectos en humanos de estos contaminantes inorgánicos van desde problemas pulmonares hasta intoxicación y cáncer; en algunos casos producen aberraciones cromosómicas que se detectan en descendencia con rasgos anormales (Colombia, 2012).

En particular, la deficiencia de metales esenciales como el hierro (Fe), Zinc (Zn) y calcio (Ca) en el cuerpo humano facilita la adsorción de Cd, por lo tanto sus órganos blancos son el riñón, hígado, pulmón, hueso y placenta. Este metal, produce inflamación, es neurotóxico y el daño renal se manifiesta con proteinuria que se determina por un incremento de proteínas de bajo peso molecular como transferrina y albumina. La continua exposición a Cd, además de causar disfunción tubular, también puede progresar a daño glomerular con una disminución en la filtración. Se ha encontrado que el Cd disminuye la viabilidad celular, inhibe la formación de hueso y la actividad de fosfatasa alcalina (Flores, Arroyo, Ortiz, & Quiroz., 2013).

Para el caso del cromo, sus efectos en la salud están principalmente involucrados con las vías respiratorias, estos efectos incluyen irritación del revestimiento del interior de la nariz, secreción nasal, y problemas para respirar (asma, tos, falta de

aliento, respiración jadeante). La ingestión del cromo afecta el estómago e intestino delgado provocando irritación y úlceras y en sangre algunas veces anemia (ATSDR, 2012).

El plomo afecta todos los órganos y sistemas. Actúa como agonista o antagonista de las acciones del calcio y se relaciona con proteínas que poseen los grupos sulfidrilos, amina, fosfato y carboxilo. El nivel sanguíneo de plomo materno aumenta el riesgo fetal y de alteraciones neurológicas en los recién nacidos. La inmadurez fisiológica de fetos e infantes (hasta la edad de 36 meses) aumenta el riesgo de que el plomo penetre al sistema nervioso central, lo que puede resultar en alteraciones neurológicas o de conducta permanente. El plomo también puede afectar los sistemas renal, endocrino y sanguíneo (Poma, 2008).

Para lograr extraer estos contaminantes de las aguas, se utilizan métodos fisicoquímicos, los cuales poseen una limitada eficacia y un elevado costo. Debido a esto, se ha utilizado como tratamiento de aguas residuales la utilización de plantas y microorganismos como metodologías más económicas. En particular, la capacidad de las plantas acuáticas para remover metales pesados potencialmente tóxicos. Entre estas plantas se encuentran: Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*), duck weeds (*Lemna gibba* o *Lemna minor*) y lechuga de agua (*Pistia stratiotes*). Este proyecto tiene como objetivo determinar cuál es la capacidad de la planta *Pistia stratiotes* para acumular específicamente los metales Cd, Cr y Pb.

Por medio de una técnica espectrofotométrica (absorción atómica), se buscó evaluar la capacidad que posee la planta *Pistia stratiotes* para acumular Pb, Cd y Cr, esta técnica permite evaluar la concentración de un analito basándose en la ley de Beer-Lambert, analizando la capacidad que poseen los átomos de los metales para emitir luz a determinada longitud de onda. Esta evaluación se llevó a cabo en diferentes partes de la planta para determinar cuál fue el órgano que presentaba una mayor acumulación de metales pesados.

Debido a que la planta presentó acumulación de Pb, Cd y Cr; este trabajo se podrá utilizar como una base para posibles estudios de escalamiento y posible utilización de esta especie para la descontaminación de aguas. Además uno de los usos que se le está dando a esta planta, por ser invasora, es utilizarla como fuente de alimento para ganado. El resultado de este estudio sugiere que se debe evaluar con mucha precaución este uso ya que puede generar daños fisiológicos y toxicológicos para estos animales y para los seres humanos los cuales son los principales consumidores.

## 2.2 MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

Uno de los rasgos característicos de la sociedad moderna es la creciente emisión al ambiente de sustancias contaminantes, destacando aquellas que proceden de las actividades industriales, mineras, agropecuarias, artesanales y domésticas. Estos compuestos representan una amenaza para los seres vivos, por lo que se han desarrollado una serie de métodos para enmendar el impacto causado. Los métodos convencionales pueden ser costosos y pueden afectar de manera irreversible las propiedades del suelo, agua y de los seres vivos que en ellos habitan (Padmavathiamma & Li, 2007).

El aumento de los costos y la limitada eficacia de los tratamientos fisicoquímicos han estimulado el desarrollo de nuevas tecnologías. Por lo que, la fitorremediación representa una alternativa sustentable y de bajo costo para la rehabilitación de ambientes afectados por contaminantes naturales y antropogénicos (Singh & Jain, 2003).

La fitorremediación es un conjunto de tecnologías que reducen *in situ* o *ex situ* la concentración de diversos compuestos a partir de procesos bioquímicos realizados por las plantas y microorganismos asociados a ellas. La fitorremediación utiliza las plantas para remover, reducir, transformar, mineralizar, degradar, volatilizar o estabilizar contaminantes (Miretzky, Saralegui, & Fernández-Cirelli, 2004).

Las macrófitas flotantes comprenden un amplio y variado grupo de plantas, entre las que se destacan el Jacinto de agua (*Eichhornia crassipes*), la lechuga de agua (*Pistia stratiotes*), la salvinia (*Salvinia Spp.*), la redondita de agua (*Hydrocotyle ranunculoides*), y algunas especies de lentejas de agua (*Lemna Spp.*, *Spirodella Spp.*) (Martelo & Borreo, 2012).

Los procesos por los cuales las macrófitas flotantes eliminan los contaminantes se llevan a cabo mediante tres mecanismos:

- Filtración y sedimentación de sólidos.
- Incorporación de nutrientes en plantas y su posterior cosechado.
- Degradación de la materia orgánica por un conjunto de microorganismos facultativos asociados a las raíces de las plantas; y en los detritos del fondo de la laguna, dependiendo del diseño.

El primero de los mencionados anteriormente aplica para los metales pesados.

Los sistemas acuáticos con macrófitas flotantes, reducen significativamente el paso de la luz solar y restringen la transferencia de gases entre la atmósfera y el agua. Como consecuencia estos sistemas tienden a permanecer libres de algas y en condiciones anaeróbicas, en la medida dada por algunos parámetros de diseño como la carga orgánica, el tiempo de retención, el tipo de especies seleccionadas y

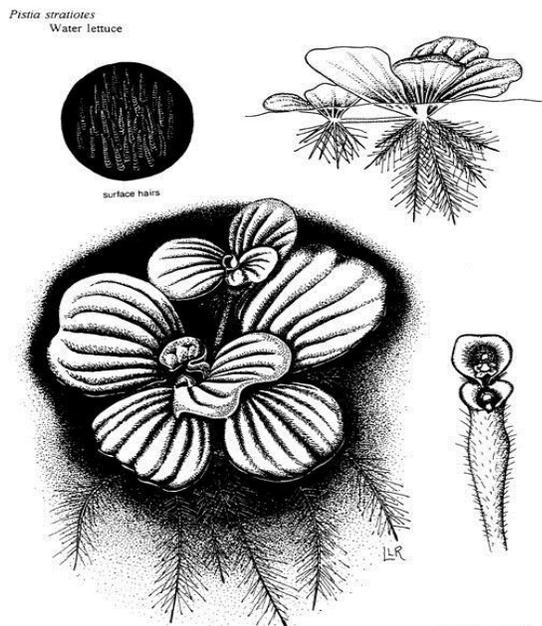
la densidad de las mismas en el agua. Pero así mismo, esta condición puede resultar en bajos niveles de oxígeno disuelto en el agua, que eventualmente sería útil para sustancias que lo demandan; la eliminación microbiana de algunos compuestos tiene lugar gracias al oxígeno que las plantas transportan desde la atmósfera hasta el sistema radicular (Martelo & Borreo, 2012).

La principal ventaja que ofrecen estos sistemas es la gran superficie de contacto que tienen sus raíces con el agua residual, ya que esta les baña por completo, lo que permite una gran actividad depuradora de la materia orgánica por medio de los microorganismos adheridos a dicha superficie o por las propias raíces directamente. No obstante, la acumulación de bacterias en las raíces de las macrófitas, puede convertir la biomasa en una fuente de contaminación, en cuyo caso se requiere un manejo cuidadoso de la cosecha (Martelo & Borreo, 2012).

La principal desventaja de los sistemas con macrófitas flotantes es la capacidad limitada de acumular biomasa, por lo que se deben hacer retiros periódicos de la misma para permitir el crecimiento de las plantas, y eso encarece el proceso en lo que a mano de obra se refiere. Otra desventaja es la proliferación de mosquitos como vectores transmisores de enfermedades, lo que condiciona la ubicación de los sistemas lejos de centros poblados (Martelo & Borreo, 2012).

La planta acuática *Pistia stratiotes* (Figura 1) se distribuye en la región tropical y subtropical de Asia, África y América. Se encuentra en lagunas y arroyos y forma una capa en la superficie que enturbia el agua y funciona como reservorio para larvas de mosquitos portadoras de filarias. Esta planta torna el agua verde, inodora y amarga, y tendría propiedades medicinales. Entre dichas propiedades se incluyen características antisépticas, antituberculosas y antisedentericas. Además, se utiliza como colirio, en caso de afecciones otológicas, eczema, úlcera, sífilis, enfermedades sanguíneas, entre otros. La planta también tiene propiedades refrescantes, laxantes y diuréticas, y se utiliza en su totalidad (Tripathi, Kumar, & Gupta, 2010).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Alismatales
Familia	Araceae
Género	<i>Pistia</i> L.
Especie	<i>P. stratiotes</i>



**Figura 1.** Ilustración de *Pistia stratiotes* (University of Florida, 2013).

Debido a que *Pistia stratiotes* es una planta invasora, puede llegar a constituir una verdadera plaga. Si no se controla su población puede llegar a ocupar con facilidad toda la superficie del agua hasta tal punto de no poder ver el agua o los peces que podamos tener debajo. Incluso puede entorpecer la navegación en los canales.

*Pistia stratiotes* forma sobre la superficie una masa compacta que evita el paso del oxígeno del aire al agua, la falta de oxigenación provoca la muerte de los peces y de las plantas sumergidas, alterando la distribución y desarrollo de las comunidades de plantas acuáticas autóctonas.

Para tener un control sobre esta, se está intentando erradicar por medios mecánicos y naturales introduciendo insectos para su control, aunque en la mayoría de los casos se utilizan herbicidas. Así se han realizado estudios para evaluar su capacidad de acumular algunos contaminantes como metales pesados y poder utilizarse como una alternativa de fitorremediación. También, debido a este problema de invasión, en algunas regiones, se está utilizando como fuente de alimentación para ganado.

Los metales pesados agrupan sustancias como cadmio, mercurio, cromo, cobalto, cobre, molibdeno, níquel, plomo, estaño, titanio, vanadio, zinc o plata. Éstos constituyen un riesgo serio para el medio ambiente, ya que son sustancias con una gran estabilidad química ante los procesos de biodegradación, por lo que los seres vivos son incapaces de metabolizarlos, generándose una contaminación por bioacumulación y un efecto multiplicador en la concentración del contaminante en la cadena trófica. Alcanzan niveles altos de toxicidad y se absorben muy

eficientemente a través de las membranas biológicas por su elevada afinidad química por el grupo sulfidrilo de las proteínas (Mancera & Álvarez, 2006).

La presencia en los recursos hídricos de metales pesados y sustancias orgánicas complejas, entre otras, han sido responsables de innumerables situaciones de impacto sobre el ecosistema acuático y la salud pública en general (Thomann, 1982).

Metales como cadmio, plomo y zinc, junto al mercurio, están considerados dentro de los mayores agentes tóxicos asociados a contaminación ambiental e industrial. El cadmio se obtiene como subproducto del tratamiento metalúrgico del zinc y del plomo, a partir de sulfuro de cadmio y con formación de óxido de cadmio, compuesto altamente tóxico. La acumulación de cadmio en el riñón e hígado depende de la intensidad, del tiempo de exposición y del estado óptimo de la función de excreción renal. Se ha descrito también que las concentraciones renales de zinc se incrementan al aumentar las de cadmio y que la capacidad de almacenamiento es limitada a 300 mg/g. Ciertos metales pesados, como cadmio, plomo y cromo, se acumulan en tejidos humanos, especialmente como riñón y pulmón, alterando sus funciones básicas y provocando efectos tóxicos como neumonía, disfunción renal y enfisemas. En intoxicaciones crónicas son habituales las osteopatías que parecen estar relacionadas con alteraciones del metabolismo de la absorción del calcio y algunos tipos de cáncer relacionados con el aparato reproductor masculino (Mancera & Álvarez, 2006).

Los efectos que pueden causar los metales pesados en plantas dependen del rango de tolerancia de cada especie, y del metal contaminante. Pueden ocasionar marchitamiento, amarillez, deformación de las hojas y raíz, y pudrición de los tejidos. Los máximos valores tolerables de metales pesados, estimados para cualquier especie vegetal son de: (Universidad Nacional de Colombia, 2012)

- 259.2 (40 - 530) microgramos /g de peso seco para Zn.
- 58.2 (9 - 93) microgramos /g de peso seco para Cu.
- 3.2 (1 - 8) microgramos /g de peso seco para Cd.
- 90.0 (27 - 245) microgramos /g de peso seco para Pb.

Si bien es imposible un control drástico de los aportes de los metales pesados por la demanda de los productos industriales, dentro de las medidas importantes a tomar se propone:

- Minimizar el consumo de comida enlatada.
- Evitar el uso de aditivos de plomo en la gasolina.
- Prohibir las pinturas que contienen plomo.

- En las poblaciones y ciudades ribereñas o costeras debe existir un manejo estricto y por separado de los residuos de mercurio, en particular de baterías o pilas (Universidad Nacional de Colombia, 2012).

Se ha encontrado en diferentes artículos y noticias que *Pistia stratiotes* y algunas otras plantas invasoras han sido utilizadas como alimento para ganado. Para la Organización Mundial de la Salud (OMS), los principales problemas sanitarios que pueden tener su origen en los productos animales son los causados por microorganismos, micotoxinas, dioxinas, residuos de pesticida y medicamentos y metales pesados. De los problemas mencionados varios de ellos pueden tener su origen o parte de su origen en la alimentación de los animales (Barán, 2001).

La Comisión conjunta FAO/OMS del Codex Alimentarius propone limitar en los productos animales los niveles máximos para plomo y cadmio. En la unión Europea, estas recomendaciones serán de obligado cumplimiento desde el 5 de Abril de 2002. La AAFCO (Asociación Oficial Americana de Control de Alimentos) clasifica los metales en altamente tóxicos, tóxicos, moderadamente tóxicos y ligeramente tóxicos y da unos valores máximos recomendables (Barán, 2001).

**Tabla 1.** Niveles máximos recomendables de metales pesados en alimentos animales.

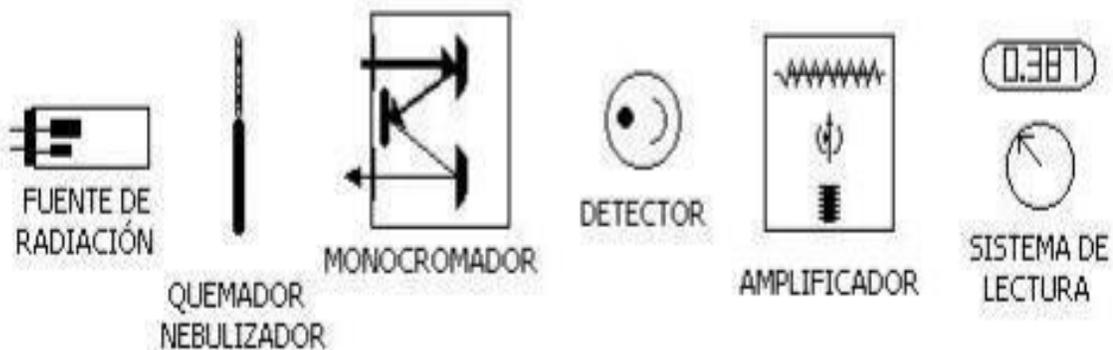
<b>Categoría</b>	<b>Nivel máximo (mg/kg)</b>	<b>Metal</b>
Altamente tóxico	10	<b>Cadmio</b> , Mercurio, Selenio, Bario, Cobalto, Cobre, <b>Plomo</b> , Molibdeno, Tugsteno, Vanadio, Antimonio, Arsénico, Yodo, Niquel, Aluminio, Boro, Bromo, Bismuto, <b>Cromo</b> , Manganeso, Zinc.
Tóxico	40	
Moderadamente tóxico	400	
Ligeramente tóxico	1000	

Las características particulares de ciertos terrenos, la contaminación de praderas y tierras de cultivo con metales pesados procedentes de industrias de fundición, purines y residuos, y materias primas como fosfatos, son las principales vías de entrada en la cadena alimenticia de los metales pesados al ser consumidos y acumulados por los animales. Para asegurar que las materias primas y piensos utilizados en alimentación animal no suponen un riesgo para el consumidor, es necesario implementar sistemas de control de puntos críticos en las fábricas de piensos o incluso planes de muestreo a nivel nacional e internacional que verifiquen el cumplimiento de la legislación vigente (Barán, 2001).

En este proyecto, para lograr determinar la acumulación de estos metales pesados se utilizó un equipo de absorción atómica el cual tiene como fundamento la

absorción de radiación de una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente por átomos que tengan niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos, está determinada por la ley de Beer, que relaciona ésta pérdida de poder radiante, con la concentración de la especie absorbente y con el espesor de la celda o recipiente que contiene los átomos absorbedores (Skogg & Holler, 1998).

Los componentes instrumentales de un equipo de absorción atómica se muestran a continuación:



**Figura 2.** Componentes de un Espectrofotómetro de Absorción Atómica (Skogg & Holler, 1998).

Básicamente, se necesita una fuente de radiación que emita una línea específica correspondiente a la necesaria para efectuar una transición en los átomos de elemento analizado; un nebulizador, que por aspiración de la muestra líquida, forme pequeñas gotas para una atomización más eficiente; un quemador, en el cual por efecto de la temperatura alcanzada en la combustión y por la reacción de combustión misma, se favorezca la formación de átomos a partir de los componentes en solución; un sistema óptico que separe la radiación de longitud de onda de interés, de todas las demás radiaciones que entran a dicho sistema; un detector o transductor, que sea capaz de transformar, en relación proporcional, las señales de intensidad de radiación electromagnética, en señales eléctricas o de intensidad de corriente; un amplificador o sistema electrónico, que como su nombre lo indica amplifica la señal eléctrica producida, para que el siguiente paso pueda ser procesada con circuitos y sistemas electrónicos comunes y por último se requiere un sistema de lectura en el cual la señal de intensidad de corriente, sea convertida a una señal que el operario pueda interpretar. Este sistema de lectura puede ser una escala de aguja, una escala de dígitos, un graficador, una seria de datos que pueden ser procesador a su vez por una computadora, etc. (Skogg & Holler, 1998).

### 2.3 OBJETIVOS

### 2.3.1 Objetivo general

Determinar la capacidad que posee la planta *Pistia stratiotes* para acumular los metales pesados Cadmio, Cromo y Plomo.

### 2.3.2 Objetivos específicos

- Implementar un modelo experimental para el crecimiento de la planta *Pistia stratiotes* en un medio con cantidades conocidas de cadmio, cromo y plomo.  
Indicador: Crecimiento adecuado de *Pistia stratiotes* en acuarios en condiciones controladas.
- Determinar la concentración de metales pesados en la planta *Pistia stratiotes* y en las aguas de crecimiento.  
Indicador: Concentración de metales pesados.
- Identificar el órgano de la planta que presenta mayor acumulación de metales.  
Indicador: Concentración de metales pesados por órgano de la planta (Hojas, raíz y tallo)

## 2.4 METODOLOGÍA

Los especímenes de la planta *Pistia stratiotes* fueron recolectados de un estanque ubicado en la casa SAE, en las cercanías de la zona de compostaje de la Universidad Icesi, teniendo en cuenta su aspecto y similitud de tamaño.



**Figura 3.** Estanque donde se extrajeron las muestras de *Pistia stratiotes*, ubicado en la casa SAE de la Universidad Icesi

### ***Evaluación del crecimiento de raíz, número de hojas y número de hijas de Pistia stratiotes***

El experimento que se llevó a cabo por 14 días, consistió en medir el tamaño de raíz y contar el número de hojas y nuevos retoños de la lechuga de agua en dos lugares distintos, una pecera ubicada en la casa de malla y otra pecera ubicada en el vivero ambos dentro del campus.

Para empezar con este experimento, se tomaron 18 individuos de *Pistia stratiotes*; estos individuos se dividieron en dos grupos de nueve, cada uno etiquetado con lana de diferentes colores, para ser pasados a dos peceras que contaban con las siguientes dimensiones: 45x34x13 cm, y contenían un volumen de capacidad de 20L. El volumen de agua utilizado en cada pecera fue de 2L.

La temperatura del agua del estanque de donde fueron extraídas las plantas era de 27°C, la pecera de casa de malla tenía una temperatura de 35°C y por último la

pecera ubicada en el vivero tenía una temperatura de 30°C. Para lograr medir las raíces de la planta, se utilizó una regla de 30cm.

### ***Evaluación de la cantidad mínima de agua para el crecimiento óptimo de Pistia stratiotes.***

Este estudio se llevó a cabo en el vivero de la Universidad Icesi. Las plantas extraídas se colocaron en vasos desechables (1 planta por vaso) con los siguientes volúmenes de agua: 60mL, 80mL, 100mL, 120mL, 140mL, 160mL, 180mL y 200mL. Este experimento se llevó a cabo por triplicado. Cabe mencionar que no se realizó ningún pretratamiento al agua utilizada ya que se utilizó para todos los experimentos el agua procedente del estanque. El crecimiento se evaluó mediante la medición de las raíces de las plantas en tres días, con la ayuda de una regla de 30cm.

### ***Evaluación del crecimiento de Pistia stratiotes en presencia de metales pesados.***

Este experimento se llevó a cabo en el vivero de la Universidad Icesi. Se utilizó un volumen de 1400mL. Se realizaron soluciones a diferentes concentraciones de los metales Cadmio ( $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), Cromo ( $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ ) y Plomo ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ), la evaluación se llevó a cabo a 0.5ppm, 1ppm, 3ppm, 5ppm y 7ppm haciendo las diluciones respectivas teniendo en cuenta que la solución matriz tenía una concentración de 1000ppm.

Los cálculos que se realizaron para la elaboración de las soluciones de metales, se obtuvieron de los siguientes pesos de las sales correspondientes; sulfato de cadmio: 0.0259g, nitrato de cromo III: 0.0256g y nitrato de plomo: 0.0248g.

### ***Elaboración de la solución matriz de Cadmio***

<b>Peso <math>3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}</math></b>	<b>0.0259g</b>
---	----------------

$$\text{Concentración de la solución matriz} = \frac{0.0259\text{g}}{25\text{mL}} \times \frac{1000\text{ mg}}{1\text{g}} \times \frac{1000\text{mL}}{1\text{L}}$$

$$\text{Concentración de la solución matriz} = 1036\text{ ppm} \approx 1000\text{ppm}$$

Para la elaboración de las respectivas soluciones de metales se realizaron los cálculos con la siguiente ecuación:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$V_1 = \frac{7\text{ppm} \times 1400\text{mL}}{1000\text{ppm}}$$

$$V_1 = 9.8\text{ mL}$$

Según lo anterior, para una solución de 7ppm de Cadmio se tomó 9.8mL de la solución madre y se llevó a un volumen de 1400mL. Así mismo, se realizó el cálculo de todas las soluciones donde se obtuvieron los siguientes volúmenes:

**Tabla 1.** Volúmenes de las soluciones de metales pesados a diferentes concentraciones, utilizados para el estudio del crecimiento de *Pistia stratiotes* en presencia de Cadmio, Cromo y Plomo.

<b>Concentración de la solución final (ppm)</b>	<b>Volumen de la solución madre (mL)</b>
7	9.8
5	7
3	4.2
1	1.4
0.5	0.7

La evaluación del crecimiento de *Pistia stratiotes* en presencia de metales pesados se llevó a cabo por 23 días, analizando todos los días el volumen de las soluciones con el fin de completar el nivel del agua y así evitar una alteración de la concentración de las soluciones. El crecimiento se evaluó mediante la medición de la raíz con la ayuda de una regla de 30cm.

Para este estudio se utilizaron 4 especímenes de *Pistia stratiotes* por cada recipiente (n=4).

### **Lectura de metales en equipo de absorción atómica**

El cultivo se llevó a cabo en el vivero de la Universidad Icesi por 17 días. No se realizó ningún pretratamiento al agua utilizada. Las soluciones de los metales Cadmio ( $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ), Cromo ( $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ ) y Plomo ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ), a una concentración de 7ppm fueron preparadas adicionando la sal correspondiente al agua del estanque. Para este estudio se utilizaron 50 g del material vegetal. Es

importante mencionar que se controló el nivel del agua en los recipientes con el fin de reponer pérdidas por evapotranspiración, manteniendo el volumen constante.

Se examinaron diariamente los recipientes para observar el estado de las plantas y determinar si se evidenciaban síntomas de fitotoxicidad. Al finalizar los 17 días, los vegetales fueron extraídos y lavados.

Para la obtención de la biomasa seca, las plantas se separaron en los órganos a estudiar: Hojas, tallo y raíces, y se llevaron a un horno a de 70°C hasta peso constante. Sobre las muestras secas se realizó una digestión en caliente a una temperatura de 94°C utilizando una mezcla de HCl: HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub>.

En el proceso de digestión se pesó aproximadamente 1 g de material seco correspondiente a cada órgano de la planta y se llevó a calor con 30mL de la solución acida hasta translucidez. Seguidamente se tomó un volumen final, teniendo en cuenta las curvas de calibración, y se aforó a un volumen de 10mL con agua deionizada.

**Tabla 2.** Tiempos de digestión completa de las muestras

	HOJAS	RAIZ	TALLO
Plomo	6h	4h	6h
Cromo	6h	4h	6h
Cadmio	6h	4h	6h
Control	2h	4h	0.5h

Para lograr determinar la concentración de cada metal, se tuvieron en cuenta las curvas de calibración obtenidas para cada uno de ellos. Así los rangos de concentración utilizados para la elaboración de las curvas fueron los siguientes: Cromo: 1ppm - 5ppm; Plomo: 2ppm- 8ppm y Cadmio: 0.2ppm – 0.8ppm. (Anexos 1,2 y 3)

Teniendo en cuenta la ecuación de la recta de la curva de calibración de plomo es posible determinar la concentración de este metal en el tallo de la siguiente manera.

$$y = 0.0229 x + 0.0028$$

Muestra de cálculo para las hojas:

$$y = 0.0229 x + 0.0028$$

$$x = \frac{y - 0.0028}{0.0229}$$

$$x = \frac{0.232 - 0.0028}{0.0229}$$

$$x = 10 \text{ ppm}$$

Las concentraciones de metales en los órganos de las plantas se midieron por espectrofotometría de absorción atómica en la Universidad del Valle, con longitudes de onda para Cr: 357.9nm, Cd: 228.2nm y Pb: 217nm, utilizando lámparas de cátodo hueco. El contenido de metal en cada órgano de la planta se obtuvo multiplicando la concentración de metal obtenida según la curva de calibración por el peso seco correspondiente.

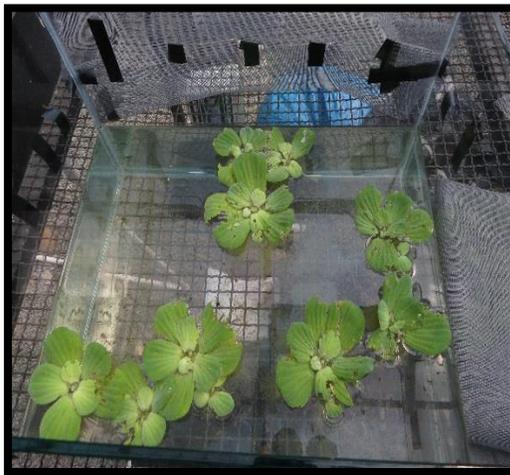
### ***Tratamiento estadístico***

Se escogió un estudio transversal ya que se están analizando varios grupos en un mismo momento, tanto para el crecimiento de las raíces en diferentes volúmenes de agua como para el crecimiento de las raíces en presencia de los metales pesados a evaluar (Plomo, Cadmio y Cromo). Teniendo en cuenta que son más de dos grupos y la variable aleatoria es una variable numérica, se realizó una prueba ANOVA- análisis de varianza con un factor.

## 2.4 RESULTADOS

Con el objetivo de encontrar un lugar óptimo para el crecimiento controlado de la planta *Pistia stratiotes*, se realizó la evaluación del crecimiento de raíz y el número de hojas nuevas y el número de nuevas hijas. El experimento se llevó a cabo del 3 al 17 de diciembre del 2014 en dos lugares de la universidad ICESI: la Casa de malla y el vivero.

Las plantas se colocaron a crecer en dos peceras, las cuales se ubicaron cada una en los sitios de estudio (Figura 2). En cada uno de ellos se ubicaron 9 especímenes de *Pistia stratiotes*, los cuales fueron seleccionados por similitud de tamaño y en la mayoría de los casos que provinieran de la misma madre, con el fin de evitar variaciones genéticas. Esto se llevó a cabo en un volumen de 2L de agua recolectada del estanque.



**Figura 4.** Pecera ubicada en el vivero.

A medida que se realizaba el experimento se comenzó a observar que las hojas de las plantas tanto en casa de malla como en el vivero comenzaban a ser depredadas (Figura 4), y se encontró que larvas de escarabajo eran las causantes de dicha actividad, así que para evitar que este hecho se presentara de nuevo se realizó una extracción manual de estas larvas.



**Figura 5.** A. Planta en casa de malla y B. Planta en el vivero

Para evidenciar cual fue el crecimiento de raíz, número de nuevas hijas y número de hojas nuevas, en la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos, teniendo en cuenta que se obtuvo del promedio de 9 individuos que se encontraban en las peceras ubicadas en los respectivos lugares de estudio.

**Tabla 3.** Resultados obtenidos del crecimiento de raíz, número de hijas e hojas.

	<b>Diferencia desde el primer día hasta el último del experimento</b>	
	<b>Casa de malla</b>	<b>Vivero</b>
Número de hojas nuevas	3.0 ± 1.0	2.0 ± 0.8
Crecimiento de la Raíz (cm)	12.0 ± 1.1	8.9 ± 2.2
Número de nuevas hijas	1.0 ± 1.3	1.0 ± 1.0

Los datos obtenidos en el experimento anterior muestran que *Pistia stratiotes* es capaz de desarrollar su crecimiento en los dos sitios donde fue evaluada, Casa de malla y vivero, por lo cual cualquiera de los dos lugares sería perfecto para la realización de este nuevo estudio, en este caso por facilidad de acceso se escogió el vivero para todos los experimentos siguientes.

Para evaluar la cantidad mínima de agua en el cual la planta (*Pistia stratiotes*) presenta crecimiento, las plantas se colocaron en vasos desechables con volúmenes de 60mL, 80mL, 100mL, 120mL, 140mL, 160mL y 180mL de agua extraída del estanque de la Universidad Icesi. Este estudio se llevó a cabo por triplicado (n=3) (Figura 5).



**Figura 6.** Montaje experimental para determinar el volumen mínimo de agua donde se da un crecimiento óptimo de *Pistia stratiotes*.

El estudio se llevó a cabo por 6 días en los cuales el crecimiento se evaluó mediante la medición de las raíces de las plantas en tres días diferentes.

Se observó crecimiento en todos los volúmenes ensayados. Sin embargo, dos de los individuos de estudio; 180mL-3 y 200mL-1 (n=2) murieron por la aparición de moho encima de sus hojas (Figura 6).



**Figura 7.** Plantas 180mL-3 (Izq) y 200mL-1 (Der)

**Tabla 4.** Crecimiento de las raíces de *Pistia stratiotes* en diferentes volúmenes de agua

Volumen (mL)	Crecimiento total (cm)
60	0.7 ± 0.4
80	1.0 ± 0.5
100	1.2 ± 0.6
120	1.3 ± 0.7
140	2.0 ± 1.0
160	1.8 ± 1.0
180	3.3 ± 1.7
200	1.3 ± 0.6

Según el análisis estadístico obtenido con la prueba de ANOVA, se obtuvo que no existen diferencias significativas entre las medias del crecimiento de en los volúmenes utilizados, esto quiere decir que *P. stratiotes* es capaz de crecer a cualquiera de estos volúmenes de agua de estanque (Anexo 4).

Con el objetivo de evaluar el crecimiento de *P.stratiotes*, en presencia de metales pesados (Pb, Cd y Cr), se realizó un nuevo experimento en recipientes más grandes. Se tomó un volumen de 1400mL para el recipiente teniendo en cuenta que lograba sumergir la raíz en una forma comparable a cuando se tenían 180mL en un vaso desechable pequeño.

La evaluación del crecimiento de *P. stratiotes* se llevó a cabo usando soluciones a concentraciones de 0.5ppm, 1ppm, 3ppm, 5ppm y 7 ppm para los metales Cd, Cr y Pb. Se realizó el estudio de *P. stratiotes* en crecimiento de Cromo, Plomo y Cadmio. Esta evaluación se realizó por 23 días (la medición del crecimiento se llevó a cabo en los días 1, 3, 4, 6, 7, 11 y 23) donde los resultados obtenidos fueron los siguientes, teniendo en cuenta la diferencia de la elongación de la raíz del último día con el día inicial:

#### **Crecimiento de *Pistia stratiotes* en presencia de Cromo (Cr)**

**Tabla 5.** Resultados obtenidos del crecimiento de la raíz de *Pistia stratiotes* en diferentes concentración de cromo.

Concentración de Cromo (ppm)	Crecimiento de raíz (cm)
7	5.5 ± 1.9
5	2.8 ± 1.0
3	6.9 ± 2.8
1	1.3 ± 1.5
0,5	4.8 ± 1.7
Control	5.8 ± 2.1

### Crecimiento de *Pistia stratiotes* en presencia de Plomo (Pb)

**Tabla 6.** Resultados obtenidos del crecimiento de la raíz de *Pistia stratiotes* en diferentes concentración de plomo.

Concentración de Plomo (ppm)	Crecimiento de raíz (cm)
7	1.7 ± 1.0
5	1.5 ± 1.6
3	3.4 ± 1.2
1	2.0 ± 0.9
0,5	4.2 ± 1.4
Control	4.4 ± 1.5

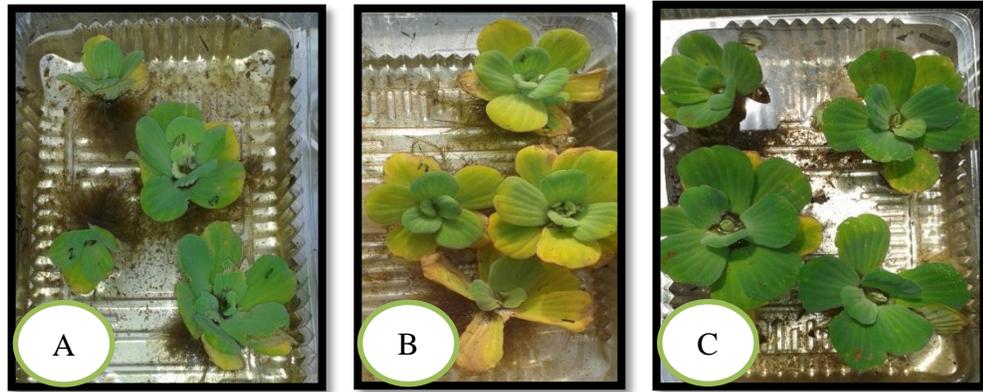
### Crecimiento de *Pistia stratiotes* en presencia de Cadmio (Cd)

**Tabla 7.** Resultados obtenidos del crecimiento de la raíz de *Pistia stratiotes* en diferentes concentración de Cadmio.

Concentración de Cadmio (ppm)	Crecimiento de raíz (cm)
7	1.2 ± 0.5
5	1.9 ± 0.9
3	2.8 ± 1.0
1	3.9 ± 1.7
0,5	5.2 ± 2.2
Control	3.9 ± 1.7

Según el análisis estadístico, obtenido a partir de la prueba ANOVA, no existen diferencias significativas entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* en las diferentes concentraciones de los metales pesados (Cromo, Cadmio y Plomo), lo cual indica que la planta es capaz de desarrollar crecimiento en presencia de estos contaminantes dentro de los rangos evaluados. (Anexo 4)

Durante la exposición de los tres primeros días de las plantas en las soluciones de metales pesados, en la concentración más alta de estos (7ppm), se evidenció la decoloración de las hojas de la siguiente forma:



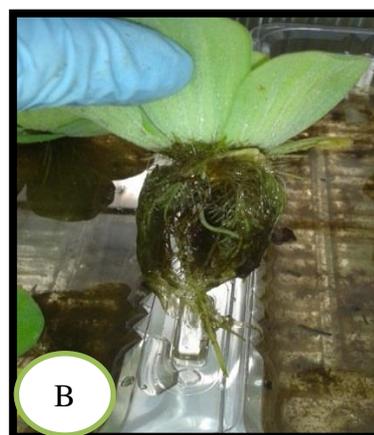
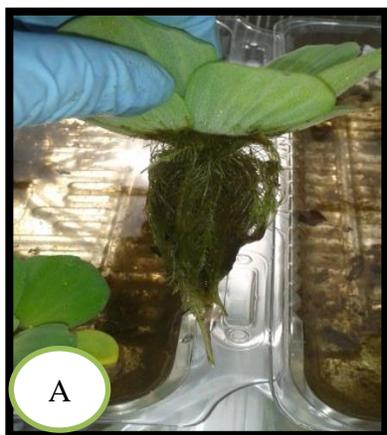
**Figura 8.** A. *Pistia stratiotes* en presencia de Cromo. B. *Pistia stratiotes* en presencia de Cadmio. C. *Pistia stratiotes* en presencia de Plomo.

Las hojas de *Pistia stratiotes* que quedaron en contacto directo con la solución de metales, durante la fase de estudio, evidenciaron una decoloración de sus hojas sin importar la concentración a la cual estuviera.

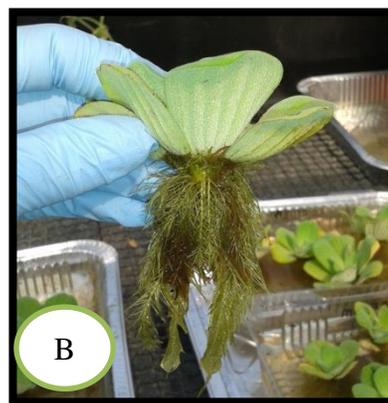
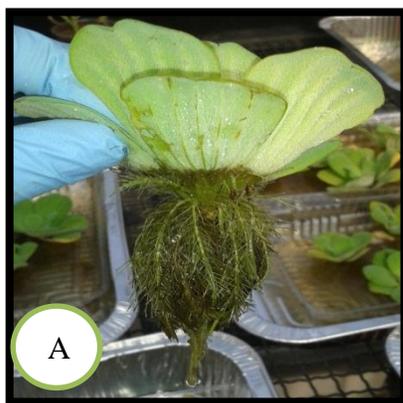


**Figura 9.** Hoja de *Pistia stratiotes* en contacto con solución de metal de cromo a 3ppm

Se logró observar el crecimiento de la raíz de una manera muy notoria ya que empezaban a nacer nuevos segmentos de esta.



**Figura 10.** Crecimiento de raíz. A. *Pistia stratiotes* solución de cromo a 1ppm. B. *Pistia stratiotes* solución de cromo a 3ppm



**Figura 11.** Crecimiento de raíz. A. *Pistia stratiotes* solución de plomo a 5ppm. B. *Pistia stratiotes* solución de plomo a 3ppm



**Figura 12.** Crecimiento de raíz. A. *Pistia stratiotes* solución de Cadmio a 0.5ppm. B. *Pistia stratiotes* solución de Cadmio a 3ppm

Con el fin de realizar la lectura de metales pesados (Cr, Cd y Pb) en el equipo de absorción atómica, se colocaron a crecer las plantas en una concentración de 7ppm ya que fue la concentración más alta del estudio a la cual no se evidenció muerte de las plantas.

El crecimiento se llevó a cabo por 17 días, manteniendo el volumen de agua constante con el fin de que mantuviera siempre la misma concentración.

Para lograr llevar las muestras al equipo de absorción atómica, las plantas fueron separadas por tallo, hojas y raíces para continuar con el secado.



**Figura 13.** Partes de *Pistia stratiotes*. A. Hojas. B. Raíces. C. Tallo

Las plantas debían estar completamente secas para lograr hacer las respectivas digestiones de las muestras, por lo que se llevaron a un horno a 70°C hasta peso constante.



**Figura 14.** *Pistia stratiotes* en bandejas de aluminio para posterior secado.

**Tabla 8.** Concentración obtenida de plomo en los diferentes órganos de la planta

Plomo (Pb)	Absorbancia	Concentración (ppm)
Hojas	0.232	10.00
Raíz	0.221	9.53
Tallo	0.196	8.44

**Tabla 9.** Concentración obtenida de Cromo en los diferentes órganos de la planta

Cromo (Cr)	Absorbancia	Concentración (ppm)
Hojas	0.092	1.75
Raíz	0.082	1.51
Tallo	0.046	0.63

**Tabla 10.** Concentración obtenida de Cadmio en los diferentes órganos de la planta

Cadmio (Cd)	Absorbancia	Concentración (ppm)
Hojas	0.089	0.89
Raíz	0.064	0.65
Tallo	0.052	0.54

### **Contenido de metales según el peso seco de la planta**

Para lograr obtener el contenido de cada uno de los metales, presentes en cada órgano de *Pistia stratiotes*, se determinó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido de metal} = \text{Concentración de cada metal} \times \text{peso seco correspondiente}$$

**Tabla 11.** Contenido de plomo en los diferentes órganos de *Pistia stratiotes*

Plomo	Peso seco correspondiente (g)	Concentración de metal (ppm)	Contenido de metal(µg.g)
Hojas	1.0029	10.00	500.698
Tallo	0.1709	9.53	2800.211
Raíz	1.2398	8.44	140.955

**Tabla 12.** Contenido de cromo en los diferentes órganos de *Pistia stratiotes*

Cromo	Peso seco correspondiente (g)	Concentración de metal (ppm)	Contenido de metal ( $\mu\text{g.g}$ )
Hojas	1.0066	1.75	88.432
Tallo	0.1200	1.51	640.061
Raíz	1.3189	0.63	24.294

**Tabla 13.** Contenido de cadmio en los diferentes órganos de *Pistia stratiotes*

Cadmio	Peso seco correspondiente (g)	Concentración de metal (ppm)	Contenido de metal ( $\mu\text{g.g}$ )
Hojas	1.0048	0.89	42.217
Tallo	0.0479	0.65	685.597
Raíz	0.8449	0.54	32.289

## 2.5 DISCUSION

### **Evaluación del crecimiento de raíz, número de hojas y numero de hijas de *Pistia stratiotes*.**

La luz solar es el factor principal para el desarrollo y salud de las plantas. Mediante la luz las plantas realizan la fotosíntesis que les permite crear el alimento necesario para su organismo. El crecimiento de una planta, así como el número de horas que está activada depende de la luz que esta recibe. Al analizar los resultados obtenidos se pudo observar que *Pistia stratiotes* es capaz de crecer en cualquiera de estos dos lugares donde se llevó a cabo el crecimiento. Aquí cabe mencionar que en la casa de malla se presentó un crecimiento en el tamaño de raíz mayor que en el del vivero y esto se puede deber a que en este sitio la entrada de luz solar era mayor, lo cual pudo incrementar el crecimiento de la planta; ya que en el vivero como se encuentra en un sitio más sombreado la cantidad de luz que absorbía *Pistia stratiotes* era menor, pero sin despreciar que también se generó un buen crecimiento de esta.

También es necesario mencionar que la temperatura del agua de la pecera que estaba ubicada en casa de malla era mayor (35°C) que la pecera ubicada en el vivero, por lo cual se podría decir que la cantidad de calor que provenía a través de la luz solar era mayor la que llegaba a este sitio, afectando por lo tanto el crecimiento de *Pistia stratiotes*.

### **Evaluación de la cantidad mínima de agua para el crecimiento óptimo de *Pistia stratiotes*.**

En este estudio se logró evidenciar que a un mayor volumen de agua, el crecimiento de la raíz también aumentaba notoriamente. A medida que pasaban los días, se veía la diferencia de crecimiento de las raíces. Así a volúmenes mayores, la raíz era tan grande que por deficiencia del volumen de agua no podía desarrollar una gran elongación de las mismas; esto debido a que el líquido no se podía oxigenar bien y al mismo tiempo impide el buen incremento de sus raíces.

Por otra parte, fue muy importante llevar a cabo la nivelación del agua de los recipientes, ya que aproximadamente el 97% del agua absorbida por las plantas es evaporada por la superficie de las hojas, proceso denominado transpiración. El agua es absorbida por las raíces y transportada en forma líquida por el xilema hacia las hojas. En las hojas, unos pequeños poros permiten que el agua escape a la atmosfera en forma de vapor, al tiempo que se permite la entrada de dióxido de carbono para la fotosíntesis.

En las plantas el agua cumple múltiples funciones. Las células deben tener contacto directo o indirecto con el agua, ya que casi todas las reacciones químicas celulares tienen lugar en un medio acuoso. Para que un tejido funcione normalmente

requiere estar saturado con agua, manteniendo las células turgentes. Todas las sustancias que penetran en las células vegetales deben estar disueltas, ya que en las soluciones se efectúa el intercambio de sustancias nutritivas entre células, órganos y tejidos. El agua como componente del citoplasma vivo, participa en el metabolismo y en todos los procesos bioquímicos. Una disminución del contenido hídrico va acompañado por una pérdida de turgencia, marchitamiento y una disminución del alargamiento celular, se cierran los estomas, se reduce la fotosíntesis, la respiración y se interfieren varios procesos metabólicos básicos. La deshidratación continuada ocasiona la desorganización del protoplasma y la muerte de muchos organismos.

Así mismo, a volúmenes pequeños no se evidenció mayor crecimiento y esto es debido a que la planta al quedar dentro del vaso la cantidad de oxígeno que podía absorber era muy mínimo, comparado con las plantas que se encontraban a un volumen de agua mayor donde las hojas quedaban más expuestas al ambiente. Las plantas toman del aire que las rodea el dióxido de carbono y el oxígeno. El movimiento continuo de la atmósfera asegura una composición bastante constante: nitrógeno (78%), oxígeno (21%) y anhídrido carbónico (CO<sub>2</sub>), junto con vapor de agua y gases nobles.

Para lograr tener una medida típica del grado de dispersión de los datos con respecto a un valor promedio se procedió a determinar la desviación estándar de cada uno de los especímenes de *Pistia s.* en sus respectivos volúmenes. Según esto, se obtuvo una mayor dispersión de los datos a un volumen de 180mL y 140mL eso debido a que los resultados del crecimiento de la raíz varían mucho entre estos especímenes y por lo cual su desviación con respecto a la media es muy grande.

### ***Evaluación del crecimiento de Pistia stratiotes en presencia de metales pesados.***

Para la evaluación de este nuevo estudio, fue de vital importancia analizar la menor cantidad posible de agua en el cual se realizaron las soluciones de metales para lograr disminuir al máximo la contaminación. Finalmente se tomó un valor de 1400mL como un volumen de capacidad de recipiente en el cual las plantas quedaban con las raíces completamente sumergidas.

Se encontró que *Pistia stratiotes* es capaz de crecer en presencia de todos los metales pesados (Cadmio, Plomo y Cadmio) y presenta un crecimiento mayor a una concentración de 3ppm para los metales Cr y Pb y para el caso del Cadmio a una concentración de 0.5ppm evidenció un mayor crecimiento. Aquí cabe analizar que las plantas tienen mecanismos de tolerancia hacia los metales pesados los cuales varían entre las distintas especies y están determinados por el tipo de metal, eficiencia de absorción, translocación y secuestro

En las plantas expuestas al metal cromo, se evidenció que este metal afecta su desarrollo, probablemente por la concentración. Se ha encontrado que muchas

plantas son sensibles a la toxicidad por metales pesados, mientras que otras, como puede ser en este caso con *Pistia stratiotes* que no presentó muerte a una concentración de 7 ppm, desarrollan ciertos mecanismos bioquímicos que evaden su acción tóxica; como lo son la deposición de metales pesados sobre la pared celular, enlaces a grupos sulfhídricos (-SH) en el límite del citoplasma, o mediante su aislamiento en compartimientos, formando complejos con ácidos orgánicos, fenoles y otros compuestos orgánicos en las vacuolas (Hernández, 2002).

La presencia de Cr en el ambiente externo conduce a cambios en el patrón de crecimiento y desarrollo de la planta. A concentraciones medianamente bajas como en nuestro estudio 3ppm donde se obtuvo el mayor crecimiento, puede aumentar la longitud de la raíz. Por otra parte la respuesta general del crecimiento de las raíces disminuyó a concentraciones altas debido a la toxicidad del Cr, podría ser debido a la inhibición de la división células /elongación de la extensión del ciclo celular en las raíces. Bajo altas concentraciones de cromo, la reducción en el crecimiento de la raíz podría ser debida al contacto directo de las plántulas de las raíces con Cr en el medio causando colapso y la posterior incapacidad de las raíces para absorber agua desde el medio (Shanke, Cervantes, Loza, & Avudainayagam, 2005).

Debido a que la toxicidad implica inactivación de enzimas vitales, los mecanismos de evasión mencionados, ofrecen una protección efectiva contra daños bioquímicos. La habilidad que tienen ciertas plantas de desarrollar cierta resistencia contra daños ocasionados por metales pesados, es un carácter fijado genéticamente, pero modificable por adaptación. Algunas plantas tolerantes a metales pesados (metalófitas), se pueden utilizar inclusive como indicadores de depósitos minerales cerca de la superficie y son también apropiadas para ser plantadas en áreas industriales y sujetas a minería (Hernández, 2002).

Ahora, para el crecimiento de *Pistia stratiotes* en presencia de plomo también se obtuvo un mayor crecimiento a una concentración de 3ppm. Aquí el plomo transportado desde el fondo del recipiente hasta las células tiene que cruzar la membrana plasmática de las células de la raíz. Una posible vía de transporte de plomo (Pb) a través de la membrana plasmática parece que es a través de los canales cationes de la misma, tales como canales de calcio (Ca). En este sentido existe un transporte competitivo de Pb a través del canal de Ca. Los bloqueadores de los canales de calcio son capaces de inhibir la proliferación celular y la falta de calcio ocasiona la apoptosis o muerte celular. Es por esto que a una concentración mayor aunque no se evidenció muerte de *Pistia stratiotes* si se logró ver una disminución en el tamaño de la raíz (Vargas, 2006).

Los principales procesos fisiológicos afectados por la fitotoxicidad del plomo son la actividad enzimática, la nutrición mineral, el potencial hídrico, el estatus hormonal, la estructura de la membrana y el transporte de electrones. A altas concentraciones de Pb, ocurre una inhibición de crecimiento de la raíz y del mismo modo a bajas concentraciones de Pb, existe una mayor sensibilidad en el desarrollo y extensión de la raíz principal. Debido a esto, se dice que la inhibición del crecimiento radicular

bajo toxicidad con plomo puede ser un resultado de la inhibición de la división celular de la raíz (Vargas, 2006).

Por último el crecimiento de *Pistia stratiotes* en presencia de Cadmio, fue mayor a una concentración de 0.5ppm. El cadmio es capturado por las células de las raíces donde se unen inicialmente a la pared celular de las células epidérmicas para luego ser traslocados por intercambio iónico al resto de la planta. Este proceso puede estar mediado por transportadores, por difusión simple o por ambos. Entre los principales efectos más notables en plantas expuestas al Cd es la reducción en el crecimiento y reducción en la elongación de las raíces, es por esto que a concentraciones mayores de Cadmio se evidenció un crecimiento menor de la raíz (Pernía, DeSousa, Reyes, & Castrillo, 2008).

Según la literatura, no existe un mecanismo de entrada específico para el Cadmio. Entre las proteínas responsables de la entrada de cadmio a la célula cabe destacar el transportador específico de calcio, la proteína IRT1, perteneciente a la familia de transportadores de Zn y Fe. Otra familia de transportadores implicados es la Nramp, localizada en la membrana de la vacuola, por lo que probablemente tenga una función en la movilización del metal y no en el ingreso del mismo a la raíz (Rodríguez, Martínez, Romero, & Río, 2008).

Así mismo, el tiempo de estudio afecta mucho los resultados obtenidos ya que se considera que a mayor exposición de las plantas en metales pesados se podría encontrar que *Pistia stratiotes* evidenciara muerte debido a la acumulación de estos metales y los posibles efectos tóxicos que conllevan estos.

### ***Lectura de metales en equipo de absorción atómica***

Para iniciar a analizar los resultados obtenidos del contenido encontrado de cada metal vale la pena mencionar como se da el transporte de los contaminantes orgánicos (metales pesados) dentro de la planta de manera general y después se analizara como actúa cada uno de ellos en *Pistia stratiotes*.

Los metales pesados muestran una elevada tendencia a bioacumularse y a biomagnificarse a través de su paso por los distintos eslabones de las cadenas tróficas. En concentraciones elevadas, ocasionan graves problemas en el desarrollo, crecimiento y reproducción de los seres vivos.

Los mecanismos de tolerancia varían entre las distintas especies de plantas y están determinados por el tipo de metal, eficiencia de absorción, traslocación y secuestro. Las fases del proceso por el cual las plantas incorporan y acumulan metales pesados son las siguientes:

Fase I. Implica el transporte de los metales pesados al interior de la planta y, después, al interior de la célula. La raíz constituye el tejido de entrada principal de los metales, los cuales llegan por difusión en el medio, mediante flujo masivo o por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido a la presencia de grupos carboxilo, que interaccionan con las positivas de los metales pesados, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular, ya sea por vía apoplástica o simplástica.

Fase II. Una vez dentro de la planta, las especies metálicas son secuestradas o acomplejadas mediante la unión a ligandos específicos. Entre los quelantes producidos por las plantas se encuentran los ácidos orgánicos (ácidos cítrico, oxálico y málico), algunos aminoácidos (histidina y cisteína) y dos clases de péptidos: fitoquelatinas y metaloteínas.

Las fitoquelatinas son ligandos de alta afinidad que tienen como sustrato al glutatión. Están constituidas básicamente por 3 aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina, unidos por enlaces peptídicos.

Las metalotioneinas son polipéptidos de unos 70-75 aminoácidos con un alto contenido en cisteína, aminoácido capaz de formar complejos con cationes mediante el grupo sulfidrido. Tienen una marcada afinidad por las formas iónicas de Zn, Cd, Hg y Cu.

Fase III. Involucra la compartimentalización y detoxificación, proceso por el cual, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola (Delgadillo, González, Prieto, Villagomez, & Acevedo, 2011).

Ahora, para iniciar el análisis, en el metal plomo se obtuvo un mayor contenido de este metal en la raíz, seguidamente en las hojas y por último en tallo. La retención de plomo en las raíces está basada en la unión de Pb hacia iones con sitios intercambiables sobre la pared celular formando depósitos en la misma. Esta precipitación extracelular corresponde principalmente a la forma de carbonato de plomo. Es por esto que la localización del metal es mayor en raíces que en otras partes de la planta. El Pb se une fuertemente a los grupos carboxílicos del ácido galacturónico en la pared celular, el cual restringe su transporte vía apoplasto (Vargas, 2006).

Las plantas dicotiledóneas como en el caso de *Pistia stratiotes*. ya que son plantas de hojas anchas, cuyas primeras hojas que salen de las semillas son dos o más cotiledones; acumulan significativamente altas cantidades de plomo. El plomo transportado desde el fondo del recipiente hacia las células tiene que cruzar la membrana plasmática de las células de la raíz (Vargas, 2006).

El plomo se mueve predominantemente dentro del apoplasto de la raíz en una forma radial a través del córtex y se acumula cerca de la endodermis. La endodermis actúa como una barrera parcial al movimiento de plomo entre la raíz y la parte aérea. Es

por esto que se presenta mayor acumulación en raíz comparado con los otros órganos de la planta (Vargas, 2006).

Como se pudo ver anteriormente gracias a la fisiología de la planta, *Pistia stratiotes* es capaz de acumular plomo. La remediación de suelos contaminados con plomo representa un significativo desafío para muchas industrias e instituciones gubernamentales. Por esto se podría utilizar como alternativa de fitorremediación involucrando el proceso de fitoextracción, en el cual, se utilizan las plantas para extraer el contaminante del suelo (Vargas, 2006).

Por razones prácticas, la concentración de plomo en la parte aérea es el parámetro fisiológico más importante para evaluar el potencial de fitoextracción de plomo de las plantas. Esto es debido a que la acumulación de plomo en raíces es significativamente superior que en la parte aérea, pero en el caso de *Pistia stratiotes*, se encontró que la cantidad de metal en raíz y en hojas es básicamente muy similar. Por el contrario en el tallo, se encontró un valor muy mínimo el cual se debe a que el peso seco correspondiente fue diez veces menor que el peso seco de los otros órganos (Vargas, 2006).

Para el metal cadmio, se encontró que las hojas presentan mayor acumulación, seguido de la raíz y luego el tallo. En la planta, el cadmio se acumula preferentemente en la raíz secuestrada en la vacuola de las células, y solo una pequeña parte es transportada a la parte aérea de la planta concentrándose en orden decreciente en tallos y hojas. Una posible teoría se basa en que el cadmio ingresa en la vacuola unido a fitoquelatinas a través de un transportador de tipo ABC. Otro posible mecanismo de entrada del cadmio en la vacuola es mediante un cotransportador de  $Cd^{2+}/H^{+}$  ubicado en la membrana de la misma. Los transportadores de cationes CAX, implicados en el transporte de calcio a la vacuola, también transportan otros metales como el cadmio. Una vez en la raíz, el cadmio puede pasar al xilema a través del apoplasto y/o a través del simplasto formando complejos (Rodríguez, Martínez, Romero, & Río, 2008).

El cromo presentó mayor contenido en hojas, seguido por la raíz y por último el tallo. La vía de absorción en las plantas aún no está claramente dilucidada. La toxicidad y los posibles efectos que puedan tener dependen como tal de la especiación del metal, que es determinante para su absorción, translocación y acumulación. El cromo se acumula principalmente en hojas y seguidamente de raíces. Debido a que efectivamente *Pistia s.* logró acumular cromo se puede utilizar para extraer y transformar los metales tóxicos como el Cr en compuestos no tóxicos e inmóviles. Esta planta puede tolerar el metal a través de quelación con ligandos apropiados de alta afinidad, biotransformación con reductores y la compartimentación en el citoplasma o en la vacuola (Oliveira, 2012).

*Pistia stratiotes*, también está siendo utilizada como alimento para ganado, donde existen estudios que evidencian que posee un alto contenido de extracto libre de nitrógeno, fibra y proteína cruda, extracto etéreo, nitrógeno y algunos minerales

como potasio, calcio, magnesio, fosforo, sodio, hierro y manganeso. Es por esto que *Pistia stratiotes* podría constituir una fuente de energía en la producción y formulación de dietas alimenticias para animales (Rodríguez & Palma, 2000).

Pero al analizar que *Pistia stratiotes* es capaz de acumular metales pesados se deben tener en cuenta los efectos que estos pueden ocasionarle a los animales y por tanto a los humanos que somos los principales consumidores de ganado.

Para el caso del cadmio su absorción por los animales es baja, particularmente en rumiantes, donde los porcentajes de absorción no sobrepasan el 1%, pero la retención en el organismo es muy elevada, particularmente en los riñones, donde la vida media puede ser de varios años. El cadmio se encuentra presente en la mayoría de los alimentos siendo más abundante dentro de las carnes en hígados y riñones. Lo que preocupa a las autoridades sanitarias es precisamente que el cadmio se encuentre en la mayoría de los alimentos pues si bien las cantidades son pequeñas, al tener la particularidad de que su eliminación muy lenta del organismo, es necesario limitar mucho las cantidades de ingestión diaria para evitar efectos perniciosos a largo plazo. Por esta razón es uno de los metales que posiblemente preocupe más su control en la actualidad (Méndez, 2001).

Por otra parte, el plomo se absorbe en el tracto digestivo, este es transportado por los eritrocitos a todos los tejidos pero se acumula de preferencia en los huesos (60%) y en el hígado (25%); el riñón, el cerebro y la medula espinal. Se acumula lentamente en el organismo, la exposición crónica a él aun en pequeñas cantidades pueden desarrollar intoxicación. Cuando el plomo se encuentra en circulación se combina con los eritrocitos y solo se encuentra en el plasma si está en grandes concentraciones. Se puede producir anemia debida a la fragilidad de los eritrocitos, lo que producirá una lisis prematura y de forma secundaria la depresión de la médula ósea conllevando a una producción reducida de eritrocitos. También puede interferir con la acción de algunas enzimas relacionadas con la síntesis de la fracción heme, bloqueando la incorporación de esta molécula al hierro (Cano & Camacho, 2000).

El cromo se absorbe por vía digestiva como resultado de la ingestión de alimento que contenga el metal. La pequeña fracción de cromo que se absorbe en el intestino pasa a la sangre, donde se distribuye a los diferentes órganos, una vez absorbido no pasa fácilmente las membranas celulares, sino que se une a la transferrina que transporta el hierro. Este se suele acumular en medula ósea, pulmones, ganglios linfáticos, bazo, riñones e hígado. Una hiperacumulación de cromo puede ocasionar enrojecimiento de la piel y lesiones en esta, vómitos, diarrea, sangre en heces y colapso cardiovascular (Albert).

Finalmente, debido a que *Pistia stratiotes* acumuló metales pesados y teniendo en cuenta los posibles efectos tóxicos que pueden llegar a ocasionar, tanto al ganado como a nosotros los seres humanos que somos los principales consumidores, se

debe hacer una minuciosa evaluación acerca de esta planta y su uso como fuente de alimento para estos animales.

## 2.6 CONCLUSIONES

- Debido a que *Pistia stratiotes* es una planta invasora y de disponibilidad elevada, se logró establecer un posible uso para esta como una alternativa de fitorremediación, ya que es capaz de acumular metales pesados, peligrosos contaminantes de los ambientes acuáticos.
- Se logró determinar para cada uno de los metales evaluados (Cadmio, Cromo y Plomo), que el órgano que presentó mayor acumulación es el tallo, seguido de las hojas y por último la raíz.
- Finalmente, como *Pistia stratiotes* es capaz de acumular metales pesados, no se recomienda su uso como fuente de alimentación para ganado, ya que esto puede traer serias consecuencias toxicológicas para estos animales y para los seres humanos que somos los principales consumidores de estos.

## 2.7 RECOMENDACIONES

Se recomienda para estudios posteriores que se evalúe la capacidad de *Pistia stratiotes* para absorber otro tipo de contaminantes y finalmente lograr tener un amplio espectro de uso para esta planta invasora que ocasiona daño al ambiente en el que se encuentra. También, es importante que se lleve a cabo este estudio bajo condiciones ambientales que se puedan controlar para determinar finalmente si algunos parámetros como: temperatura, humedad, luz, entre otros, pueden afectar directamente el crecimiento de la planta y por ende la acumulación de estos metales.

Se recomienda también utilizar un  $n \geq 5$  en el número de muestras utilizadas, al igual que complementar el análisis de remoción de metales pesados a partir de la solución acuosa tratada con estos.

## 2.8 REFERENCIAS

- Albert, L. A. (s.f.). *Cromo*. Recuperado el 28 de mayo de 2015, de <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvstox/fulltext/toxico/toxico-03a14.pdf>
- ATSDR, A. p. (2012). *Cromo (Chromium)*. Atlanta: National Technical Information Service (NTIS).
- Co, W. K. (2007). *Maquina llenadora de liquidos automatica*. Recuperado el 9 de Mayo de 2015, de <http://graphicmachinerycn.es/Maquina-llenadora-de-liquidos-automatica-73.html>
- Barán, J. M. (2001). *METALES PESADOS EN ALIMENTACIÓN ANIMAL*. Argentina.
- Cano, J., & Camacho, L. (Agosto de 2000). INTOXICACIÓN POR PLOMO.
- Colombia, U. N. (2012). *Medio Ambiente en Colombia*. Recuperado el 26 de Octubre de 2014, de [http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000088/lecciones/seccion4/capitulo10/04\\_10\\_05.htm](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000088/lecciones/seccion4/capitulo10/04_10_05.htm)
- Delgadillo, A., González, C., Prieto, F., Villagomez, J., & Acevedo, O. (2011). *PHYTOREMEDIATION: AN ALTERNATIVE TO ELIMINATE POLLUTION*. México: Tropical and Subtropical Agroecosystems.
- Dominguez, J. (16 de octubre de 2009). *Los peligros de la Automedicación*. Recuperado el 16 de febrero de 2015, de <http://www.sura.com/blogs/calidad-de-vida/peligros-automedicacion.aspx>
- Esteva, J. (2005). The Industrial Revolution. En *History of Pharmacy* (pág. 2). Masson.
- Flores, K. M., Arroyo, V. S., Ortiz, L. B., & Quiroz, L. E. (2013). Cadmio: efectos sobre la salud. Respuesta celular y molecular. *Acta Toxicológica Argentina*, 33-49.
- García, J. G., Espinosa, C. T., Muñoz, M. R., & Fuentes, V. m. (s.f.). *Biorremediación del agua de rio por plantas acuaticas en el lavaderi de verduras de Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala*. Recuperado el 01 de Noviembre de 2014, de [http://www.academia.edu/1919397/BIORREMEDIAACION\\_DEL\\_AGUA\\_DE\\_RIO\\_POR\\_PLANTAS\\_ACUATICAS\\_EN\\_EL\\_LAVADERO\\_DE\\_VERDURAS\\_DE\\_TEPETITLA\\_DE\\_LARDIZABAL\\_TLAXCALA](http://www.academia.edu/1919397/BIORREMEDIAACION_DEL_AGUA_DE_RIO_POR_PLANTAS_ACUATICAS_EN_EL_LAVADERO_DE_VERDURAS_DE_TEPETITLA_DE_LARDIZABAL_TLAXCALA)
- Hernández, R. (8 de Octubre de 2002). *Nutrición Mineral de las Plantas* . Recuperado el 23 de Mayo de 2015, de <http://www.forest.ula.ve/~rubenhg/nutricionmineral/>
- Izco, N., Creus, N., & Masso, J. (25 de 01 de 2001). *Incompatibilidades fármaco-nutrición enteral*:. Recuperado el 21 de octubre de 2014, de <http://www.sefh.es/fh/2001/n1/3.pdf>
- Jorge Ivan torres gutierrez, m. p. (2013). *google*. Recuperado el 06 de noviembre de 2014, de google: [www.contraloriagen.goy.co/...minerales..Colombia](http://www.contraloriagen.goy.co/...minerales..Colombia)
- Jimenez, V., Sanchez, M. d., Hoces, A. M., Rodriguez, M. T., & Recalde, J. M. (Agosto de 1996). *Automedicación: Riesgos y beneficios*. Recuperado el 12 de Febrero de 2015, de [http://www.cadime.es/docs/bta/CADIME\\_BTA1996\\_12\\_5.pdf](http://www.cadime.es/docs/bta/CADIME_BTA1996_12_5.pdf)

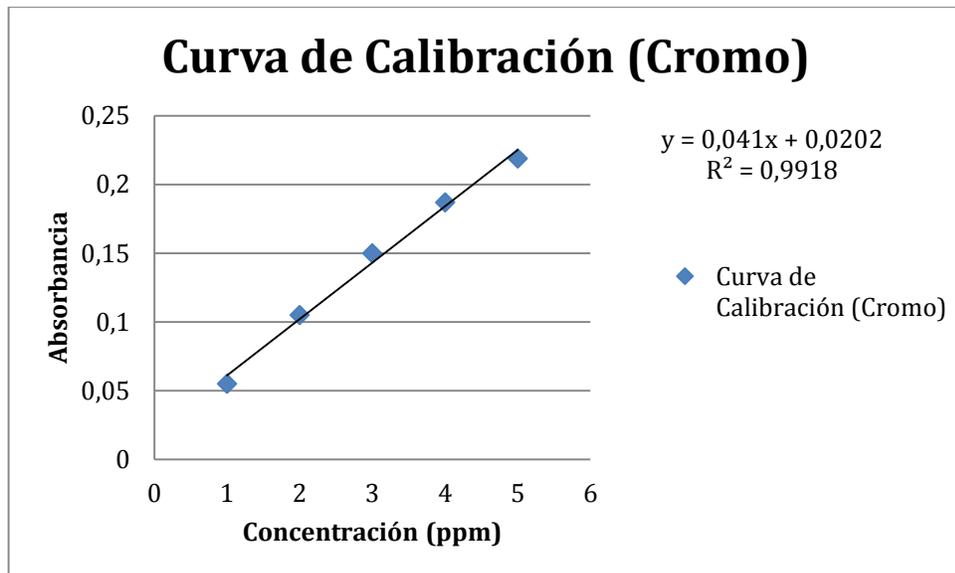
- Juárez, B. (Septiembre de 2010). *Alimentación Saludable*. Recuperado el 2014 de Noviembre de 24, de <http://www.mexicoproduce.mx/alimentacionSaludable.html>
- Lucía, J. d. (Julio de 2003). *Origin and Evolution of the Pharmaceutical Industry*. Recuperado el 23 de 10 de 2014, de <http://www.juntadeandalucia.es/averroes/~29701428/salud/farma.htm>
- Mancera, N. J., & Álvarez, R. (2006). ESTADO DEL CONOCIMIENTO DE LAS CONCENTRACIONES DE MERCURIO Y OTROS METALES PESADOS EN PECES DULCEACUÍCULAS DE COLOMBIA . *Acta Biológica Colombiana*, Vol 11.
- Martelo, J., & Borreo, J. A. (2012). Macrófitas flotantes en el tratamiento de aguas residuales: una revisión del estado del arte. *Ingeniería y Ciencia*, 221-243
- Mendez, J. (2001). *METALES PESADOS EN ALIMENTACIÓN ANIMAL* . Argentina: COREN.
- Ministerio de sanidad, s. s. (Enero de 2006). *Uso racional de medicamento*. Recuperado el Febrero de 2015, de <http://www.msssi.gob.es/campañas/campañas06/usomedicamento2.htm>
- Miretzky, P., Saralegui, A., & Fernández-Cirelli, A. (2004). Aquatic macrophytes potential for the simultaneous removal of heavy metals. Buenos Aires, Argentina: Chemosphere.
- Oliveira, H. (2012). Chromium as an Environmental Pollutant: Insights on Induced Plant Toxicity. *Journal of Botany*, 8.
- Ortiz, A. a. (Enero de 2001). *Google*. Recuperado el 6 de Noviembre de 2014, de Google: [www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/geologia/v04\\_n7/recup\\_oro\\_plata.htm](http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/geologia/v04_n7/recup_oro_plata.htm)
- Orueta, R., & Gómez, R. (2008). Automedicación. *Revista española de medicina de familia*, 133-137.
- Padmavathiamma, P. K., & Li, L. Y. (2007). Phytoremediation Technology. *Hyperaccumulation Metals in Plants. Water, Air, & Soil Pollution*. 184: 105-126.
- Peña, A. E., Fernández, L. A., & Giménez, M. T. (octubre de 2012). *Guía de Administración de Medicamentos por Sondas de Alimentación Enteral* . Recuperado el 21 de octubre de 2014, de <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadertype=Content-disposition&blobheadertype=cadena&blobheadertype=filename%3DGuia+de+administraci%C3%B3n+de+medicamentos+por+sondas+de+alimentaci%C3%B3n+enteral.pdf&>
- Pernía, B., DeSousa, A., Reyes, R., & Castrillo, M. (2008). *BIOMARCADORES DE CONTAMINACION POR CADMIO EN LAS PLANTAS*. Caracas: Interciencia.
- Poma, P. A. (2008). Intoxicación por plomo en humanos. *Anales de la Facultad de Medicina*.
- Rodríguez, M., Martínez, N., Romero, M. C., & Río, L. d. (2008). *Toxicidad del Cadmio en Plantas*. Granada: Ecosistemas.
- Rodríguez, R. (28 de Junio de 2000). *VALOR NUTRITIVO DEL REPOLLITO DE AGUA (Pistia stratiotes L.) Y SU POSIBLE USO EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL*. Recuperado el 23 de Mayo de 2015, de

- [http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_ci/ZootecniaTropical/zt1802/texto/valor.htm](http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt1802/texto/valor.htm)
- Rodriguez, R., & Palma, J. (8 de junio de 2000). *VALOR NUTRITIVO DEL REPOLLITO DE AGUA (Pistia stratiotes) Y SU POSIBLE USO EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL*. Recuperado el 27 de mayo de 2015, de [http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_ci/ZootecniaTropical/zt1802/texto/valor.htm](http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt1802/texto/valor.htm)
- Segura, L. E. (2007). *ESTUDIO DE ANTECEDENTES SOBRE LA CONTAMINACIÓN HÍDRICA EN COLOMBIA*. Bogotá .
- Shanke, A., Cervantes, C., Loza, H., & Avudainayagam, S. (2005). *Chromium toxicity in plants*. India: ELSEVIER.
- Singh, O. V., & Jain, R. K. (2003). Phytoremediation of toxic aromatic pollutants from soil. En *Applied and Microbiology Biotechnology* (págs. 128-135).
- SKOGG, & Holler, j. (1998). *PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL*. McGraw-Hill.
- Thomann, R. (1982). *Physico-Chemical and Ecological Modeling of the Fate of Toxic Substances in Natural Water Systems*. Copenhagen (Denmark).
- Tripathi, P., Kumar, R., & Gupta, R. (2010). *Pistia Stratiotes*, Planta con Propiedades Terapéuticas y Preventivas. En *Pistia Stratiotes (Jalkumbhi)* (págs. 153-160). Sociedad Iberoamericana de Información Científica.
- University of Florida, I. (2013). *Center for Aquatic and Invasive plants*. Recuperado el 21 de Octubre de 2014, de <http://plants.ifas.ufl.edu/node/328>
- Vacas, E., Daga, I. C., Giralt, M. S., Algué, A. P., & Corbera, M. B. (8 de Septiembre de 2008). Atención Primaria. *Automedicación y ancianos. La realidad de un botiquín casero*. Barcelona, España.
- Vargas, D. G. (2006). *EFFECTOS FISIOLÓGICOS Y COMPARTIMENTACIÓN RADICULAR EN PLANTAS DE Zea mays EXPUESTAS A LA TOXICIDAD POR PLOMO*. Barcelona.
- Vargas, J. C. (2011). *Evaluación de la fitorremediación como alternativa de tratamiento de aguas contaminadas con hidrocarburos*. Pereira.

## 2.9 ANEXOS

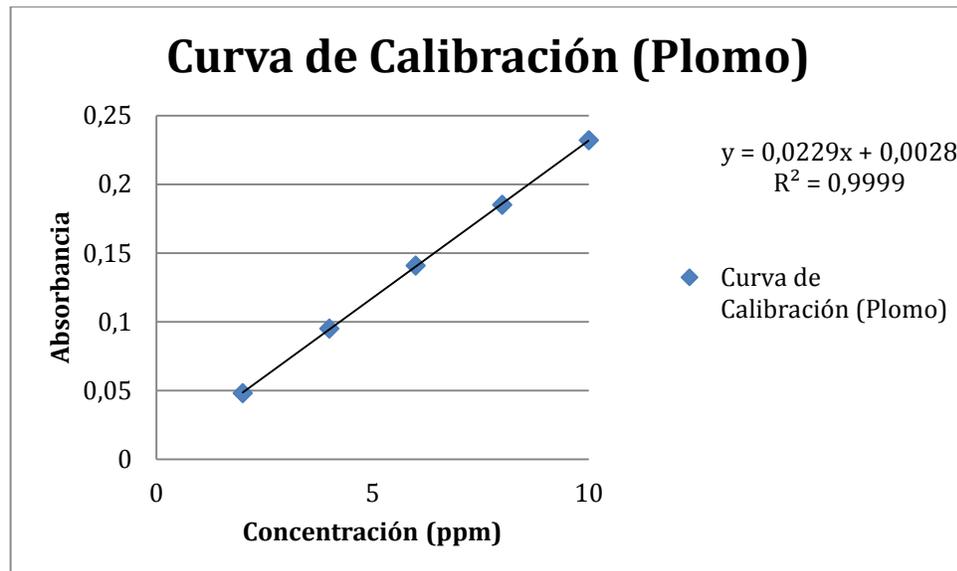
### Anexo 1. Curva de Calibración de Cromo.

Curva de Calibración (Cromo)	
Concentración (ppm)	Absorbancia
1	0,055
2	0,105
3	0,15
4	0,187
5	0,219



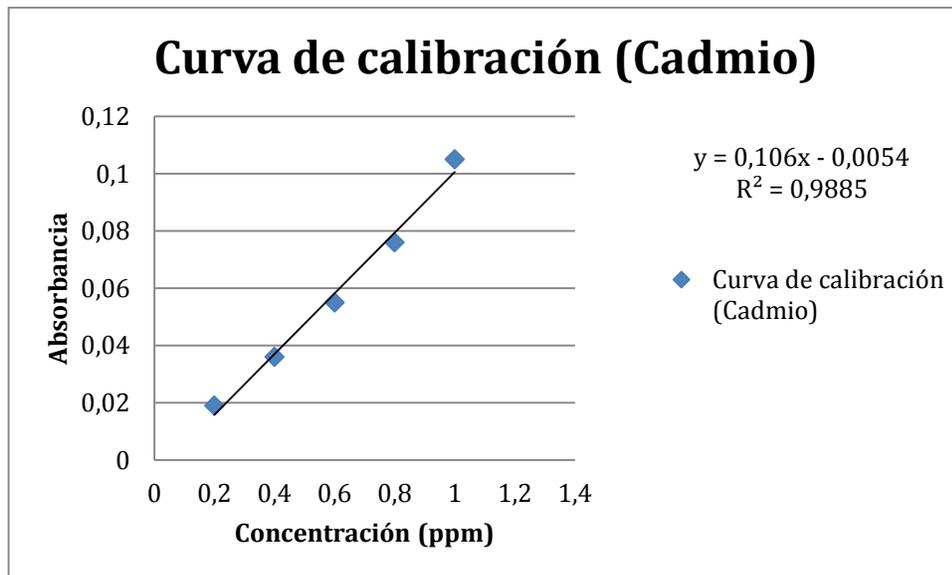
## Anexo 2. Curva de Calibración de Plomo

Curva de Calibración (Plomo)	
Concentración (ppm)	Absorbancia
2	0,048
4	0,095
6	0,141
8	0,185
10	0,232



## Anexo 3. Curva de Calibración de Cadmio

Curva de Calibración (Cadmio)	
Concentración (ppm)	Absorbancia
0,2	0,019
0,4	0,036
0,6	0,055
0,8	0,076



#### ANEXO 4.

#### TRATAMIENTO ESTADISTICO

Para la elección de la prueba estadística vale la pena tener en cuenta el siguiente cuadro.

Variable fija\ Variable aleatoria		PRUEBAS NO PARAMETRICAS			PRUEBAS PARAMETRICAS
		NOMINAL DICOTÓMICA	NOMINAL POLITÓMICA	ORDINAL	NUMERICA
Estudio transversal  Muestras Independientes	Un grupo	X <sup>2</sup> Bondad de ajuste Binomial	X <sup>2</sup> Bondad de ajuste	X <sup>2</sup> Bondad de ajuste	T de Student (una muestra)
	Dos grupos	X <sup>2</sup> Bondad de ajuste Corrección de Yates Test exacto de Fisher	X <sup>2</sup> de homogeneidad	U Mann-Withney	T de Student (muestras independientes)
	Más de dos grupos	X <sup>2</sup> Bondad de ajuste	X <sup>2</sup> Bondad de ajuste	H Kruskal-Wallis	<b>ANOVA con un factor intersujetos</b>
Estudio longitudinal Muestras relacionadas	Dos medidas	Mc Nemar	Q de Cochran	Wilcoxon	T de Student (muestras relacionadas)
	Más de dos medidas	Q de Cochran	Q de Cochran	Friedman	ANOVA para medidas repetidas (INTRAsujetos)

Se escogió un estudio transversal ya que se están analizando varios grupos en un mismo momento. Teniendo en cuenta que son más de dos grupos y la variable aleatoria es una variable numérica que en nuestro caso será el tamaño de la raíz, se realizará una prueba ANOVA- análisis de varianza con un factor.

**HIPOTESIS**

**HIPOTESIS NULA:** No existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* en los volúmenes utilizados.

**HIPOTESIS ALTERNA:** Existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* en los volúmenes utilizados.

<b>Volumen (mL)</b>	<b>Crecimiento (cm)</b>
60-1	1.5
60-2	0.5
60-3	0.0
80-1	1.0
80-2	0.5
80-3	1.5
100-1	2.0
100-2	1.0
100-3	0.5
120-1	1.5
120-2	1.5
120-3	1.0
140-1	2.0
140-2	1.0
140-3	3.0
160-1	1.0
160-1	3.5
160-3	1.0
180-1	2.5
180-2	3.5
180-3	0.0
200-1	0.0
200-1	1.5
200-3	1.0

<b>Grupos</b>	<b>Cuenta</b>	<b>Suma</b>	<b>Promedio</b>	<b>Varianza</b>
60mL	3	2.0	0.7	0.6
80mL	3	3.0	1.0	0.3
100mL	3	3.5	1.2	0.6
120mL	3	4.0	1.3	0.1
140mL	3	6.0	2.0	1.0
160m	3	5.5	1.8	2.1
180mL	3	6.0	2.0	3.3
200mL	3	2.5	0.8	0.6

### ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5,9	7	0,8	0,8	0,6	2,6
Dentro de los grupos	16,8	16	1,1			
Total	22,7	23				

Como la probabilidad es mayor al alfa (0.05) se acepta la hipótesis nula en cual se concluye que no existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* en los volúmenes utilizados. Al igual que al analizar el valor F obtenido es menor que el valor crítico F.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA EL CRECIMIENTO DE *Pistia stratiotes* EN PRESENCIA DE METALES PESADOS

#### CROMO

#### HIPOTESIS

**HIPOTESIS NULA:** No existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones de soluciones de Cromo.

**HIPOTESIS ALTERNA:** Existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones de soluciones de Cromo.

Análisis de varianza de un factor

#### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
7ppm	7	34,0	4,9	3,5
5ppm	7	31,2	4,4	1,0
3ppm	7	40,7	5,8	7,8
1ppm	7	22,3	3,2	2,1
0.5ppm	7	33,4	4,8	2,8
0ppm	7	37,7	5,4	4,3

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	28,6	5	5,8	1,6	0,2	2,5
Dentro de los grupos	129,5	36	3,6			
Total	158,1	41				

## PLOMO

### HIPOTESIS

**HIPOTESIS NULA:** No existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones de soluciones de Plomo.

**HIPOTESIS ALTERNA:** Existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones de soluciones de Plomo.

## RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
7ppm	7	33,2	4,7	1,1
5ppm	7	23,7	3,4	2,6
3ppm	7	27,5	3,9	1,4
1ppm	7	27,4	3,9	0,8
0.5ppm	7	31,5	4,5	1,9
0ppm	7	35,8	5,1	2,1

## ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	14,1	5	2,8	1,7	0,1	2,5
Dentro de los grupos	59,2	36	1,6			
Total	73,3	41				

## CADMIO

### HIPOTESIS

**HIPOTESIS NULA:** No existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones de soluciones de Cadmio.

**HIPOTESIS ALTERNA:** Existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones de soluciones de Cadmio.

## RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
7ppm	7	28,9	4,1	0,2
5ppm	7	21,2	3,0	0,9
3ppm	7	30,9	4,4	1,1
1ppm	7	31,2	4,4	2,8
0.5ppm	7	37,5	5,3	4,8
0ppm	7	25,9	3,7	2,9

## ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	21,3	5	4,3	2,0	0,1	2,5
Dentro de los grupos	76,0	36	2,1			
Total	97,3	41				

## HIPOTESIS

**HIPOTESIS NULA:** No existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones de soluciones de Cromo.

**HIPOTESIS ALTERNA:** Existe una diferencia significativa entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones de soluciones de Cromo.

Al analizar los resultados obtenidos, siguiendo el tratamiento estadístico, se puede apreciar que en los tres casos anteriores la probabilidad siempre es mayor a nuestro alfa que es 0.05, y además que el valor F obtenido es menor que el valor crítico de F; por lo anterior se acepta la hipótesis nula en la cual se concluye que no existen diferencias significativas entre las medias del crecimiento de *Pistia stratiotes* a diferentes concentraciones en los tres metales (Cadmio, Plomo y Cromo).