



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES
RENOVABLES

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE TOLERANCIA PARA PLOMO,
CROMO Y CADMIO EN *Egeria densa* A NIVEL DE LABORATORIO

TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIEROS EN
RECURSOS NATURALES RENOVABLES

AUTOR:

Tituaña Maldonado Malqui David

DIRECTOR:

Ing. Velarde Cruz Delia Elizabeth. MSc.

ASESORES

Ing. Cabrera García Jairo Santiago. MSc.

Ing. Zárate Baca Santiago. MSc.

DICIEMBRE, 2021



FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES

CERTIFICACIÓN TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE
TITULACIÓN

Ibarra, 03 de Diciembre, 2021

Para los fines consiguientes, una vez revisado el documento en formato digital el trabajo de titulación: "EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE TOLERANCIA PARA PLOMO, CROMO Y CADMIO EN *Egeria densa* A NIVEL DE LABORATORIO", de autoría del señor Malqui Tituaña estudiante de la Carrera de INGENIERÍA RECURSOS NATURALES RENOVABLES el tribunal tutor CERTIFICAMOS que el autor ha procedido a incorporar en su trabajo de titulación las observaciones y sugerencia realizadas por este tribunal.

Atentamente,

TRIBUNAL TUTOR

FIRMA

MSc Elizabeth Velarde
DIRECTORA TRABAJO TITULACIÓN

MSc Santiago Cabrera
MIEMBRO TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE TITULACIÓN

MSc. Santiago Zarate
MIEMBRO TRIBUNAL TUTOR TRABAJO DE TITULACIÓN

Misión Institucional:

Contribuir al desarrollo educativo, científico, tecnológico, socioeconómico y cultural de la región norte del país. Formar profesionales críticos, humanistas y éticos comprometidos con el cambio social.



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1003522453		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Tituaña Maldonado Malqui David		
DIRECCIÓN:	Av. Luis Leoro Franco y David Manangón		
EMAIL:	mdtituanam@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:	2 909 777	TELÉFONO MÓVIL:	0986814149


DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE TOLERANCIA PARA PLOMO, CROMO Y CADMIO EN <i>Egeria densa</i> A NIVEL DE LABORATORIO
AUTOR (ES):	Tituaña Maldonado Malqui David
FECHA: DD/MM/AAAA	06/12/2021
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniero en Recursos Naturales Renovables
ASESOR /DIRECTOR:	MSc. Elizabeth Velarde

2. CONSTANCIAS

El autor (es) manifiesta (n) que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es original y que es (son) el (los) titular (es) de los derechos patrimoniales, por lo que asume (n) la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá (n) en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los 6 días del mes de diciembre de 2021

EL AUTOR:

(Firma) 

Nombre: Malqui David Tituaña Maldonado

AGRADECIMIENTO

Siempre parece imposible... hasta que se hace - Nelson Mandela

*Agradezco infinitamente a mi familia por el apoyo incondicional que siempre me han
brindado*

*A la Universidad Técnica del Norte, Carrera de Ingeniería en Recursos Naturales
Renovables, a todos los profesores y profesoras que han compartido sus conocimientos y
han sido parte fundamental para mi formación personal y profesional*

*Al personal del Laboratorio de Investigaciones Ambientales LABINAM VLIR-UOS
encabezado por la MSc Elizabeth Velarde, directora de tesis, por haberme involucrado
en el extraordinario mundo de la limnología. A la Ing. Karen Portilla, MSc. Francisco
Caicedo, Ing. Lenin Riascos, Ing. Jorge Revelo, por el apoyo incondicional durante las
labores inherentes al laboratorio.*

*Al MSc. Santiago Cabrera y al MSc. Santiago Zárate, por el tiempo, enseñanzas y
paciencia brindada a lo largo de la realización de este proyecto de titulación.*

A todos y todas a quienes he mencionado reitero mis sinceros agradecimientos.

DEDICATORIA

La presente investigación se la dedico a mi familia, pilares fundamentales para la consecución de este título.

A mis padres: Ernesto y Rebeca, quienes día tras día me han enseñado el valor del respeto, la educación y el trabajo constante, valores que a lo largo de mi vida han sido muy importantes para llegar la persona que ahora soy.

A mi esposa Siza, quien llego a mi vida en el momento indicado, con sus consejos, apoyo incondicional, cariño y mucha paciencia, se convirtió en parte fundamental de la obtención de este título.

A mis hermanos Omar, Erick y Damián por siempre estar presentes compartiendo momentos únicos.

A mi hermana Ana Belén. A quien admiro mucho por su calidad de persona y sinceridad que la caracteriza.

¡Mi admiración y respeto hacia todos ustedes!

Malqui Tituaña

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Revisión de antecedentes.....	1
1.2 Problema de investigación y justificación.....	5
1.3 Objetivos.....	6
1.3.1 Objetivo General.....	6
1.3.2 Objetivos Específicos.....	6
1.4 Hipótesis	6
CAPÍTULO II.....	7
REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1 Marco teórico referencial.....	7
2.1.1 Ecosistemas acuáticos.....	7
2.1.1.1 Contaminación de ecosistemas acuáticos	8
2.1.1.2 Metales pesados	8
2.1.1.3 Restauración de ecosistemas acuáticos	9
2.1.1.4 Fitorestauración.....	10
2.2 Marco Legal.	11
2.2.1 Constitución política de la república del Ecuador (2008).....	11
2.2.2 Código Orgánico Ambiental	12
CAPÍTULO III.....	13
METODOLOGÍA.....	13
3.1 Descripción del lago Yahuarcocha.....	13
3.2. Metodología.....	14
3.2.1 Establecimiento de puntos de muestreo.....	14
3.2.2 Muestreo de material vegetal	16
3.2.2.1 Instalación de biorreactores	16

3.2.2.2 Diseño experimental	19
3.2.3 Redacción de guía de aplicación metodológica	20
3.4 Materiales y equipos.....	21
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
4.1 Determinación de niveles de plomo, cromo y cadmio en agua y sedimentos en el lago Yahuarcocha.....	22
4.1.1 Determinación de niveles de plomo, cromo y cadmio en la columna de agua del lago Yahuarcocha	22
4.1.2 Evaluación y determinación de niveles de plomo, cromo y cadmio en el sedimento del lago Yahuarcocha.....	24
4.2 Tolerancia de <i>E. densa</i> a diferentes concentraciones de Pb, Cr y Cd.....	25
4.2.1. Evaluación de crecimiento de <i>E. densa</i> en laboratorio	25
4.2.2 Tolerancia de <i>E. densa</i> frente a plomo.....	26
4.2.4 Tolerancia de <i>E. densa</i> frente a cromo.....	34
4.3 Diseño de guía sobre la aplicabilidad de fitorremediación con <i>E. densa</i> para cromo, plomo y cadmio	39
CAPITULO V	53
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
5.1 Conclusiones	53
5.2 Recomendaciones	54
REFERENCIAS.....	55
ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de fitorremediación.	11
Tabla 2 Puntos de muestreo de la microcuenca del lago Yahuarcocha	15
Tabla 3. Descripción de tratamientos.....	19
Tabla 4. Materiales, equipos e insumos	21
Tabla 5. Descripción de valores de metales totales en agua del lago Yahuarcocha	22
Tabla 6. Criterios de Calidad admisibles para la preservación de la flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuario.	23
Tabla 7. Descripción de valores de metales totales en sedimentos del lago Yahuarcocha.	24
Tabla 8. Normas técnicas CEQG – ISQG, NOAA	24
Tabla 9. Tratamientos realizados en laboratorio.	26
Tabla 10. Registro de longitud a diferentes porcentajes de nitrato de plomo $Pb(NO_3)_2$	27
Tabla 11. Determinación de desviación estándar para tratamiento con nitrato de plomo $Pb(NO_3)_2$	28
Tabla 12. Análisis de varianza para tratamiento con $Pb(NO_3)_2$	30
Tabla 13. Registro de longitud (cm) a diferentes porcentajes de nitrato de cadmio $Cd(NO_3)_2$	31
Tabla 14. Determinación de desviación estándar para tratamiento con nitrato de cadmio $Cd(NO_3)_2$	32
Tabla 15. Análisis de varianza para tratamiento con $Cd(NO_3)_2$	34
Tabla 16. Registro de longitud (cm) a diferentes porcentajes de K_2CrO_4	35
Tabla 17. Determinación de desviación estándar para tratamiento con cromato de potasio K_2CrO_4	36
Tabla 18. Análisis de varianza para tratamiento con K_2CrO_4	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación del lago Yahuarcocha.....	13
Figura 2. Establecimiento de puntos de muestreo.	14
Figura 3. Tratamiento de muestras:.....	17
Figura 4. Disposición de muestras	17
Figura 5. Diseño del experimento con unidades experimentales.....	20
Figura 6. Registro del crecimiento longitudinal de <i>E.densa</i> frente a Pb.....	29
Figura 7. Registro del crecimiento longitudinal de <i>E.densa</i> frente a Cd.	33
Figura 8. Registro del crecimiento longitudinal de <i>E.densa</i> frente a Cr.....	37

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES
EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE TOLERANCIA PARA PLOMO,
CROMO Y CADMIO EN *Egeria densa* A NIVEL DE LABORATORIO

TRABAJO DE TITULACIÓN

Nombre del estudiante: Malqui David Tituaña Maldonado

RESUMEN

La microcuenca del lago Yahuarcocha y otros cuerpos lacustres presentes en la provincia de Imbabura se han visto seriamente afectada en los últimos años, las actividades antrópicas inherentes a los humedales han sido la causa principal de las afecciones. Se hace urgente la intervención con soluciones integrales a fin de minimizar estos impactos. El objetivo del presente estudio fue evaluar la tolerancia de la especie *Egeria densa* frente a diferentes concentraciones de plomo, cromo y cadmio en a nivel de laboratorio, el trabajo realizado constó de tres fases: (1) Determinación de concentraciones de metales pesados presentes en la columna de agua y sedimentos del lago Yahuarcocha, de este modo que mediante la técnica de fotoespectrometría de absorción atómica los resultados indicaron la presencia de estos metales así: el rango en las muestras de agua para el metal Cd (0.0001-0.0002mg/kg), Cr (0.0002-0.012mg/kg) y Pb (0.0005 - 0.001mg/kg), en las muestras de sedimento los rangos de las concentraciones para los tres metales fueron: Cd(0.1-0.2mg/kg) Cr (17.25mg/kg) y Pb (5.8-6.8 mg/kg). (2) La evaluación de tolerancia de la especie *E. densa* frente a 5ppm, 10ppm y 15ppm de Cd, Cr y Pb se realizó en el Laboratorio de investigaciones ambientales (LABINAM), el desempeño de la especie frente a las concentraciones metálicas fue positivo, en ninguna etapa del experimento presentaron signos de marchitez o peor aún mortalidad. (3) Se generó una guía metodológica del presente estudio con la finalidad de incentivar a la comunidad académica y científica replicar este tipo de estudios y así proponer estrategias de restauración de ecosistemas acuáticos.

Palabras clave: Tolerancia, concentración, evaluación, contaminante, desempeño.

ABSTRACT

The hydrographic micro-basin of Yahuarcocha lake and other lake bodies present in Imbabura province have been seriously affected in recent years, anthropic activities inherent in wetlands have been the main cause of the diseases. Intervention with integral solutions is urgently required in order to minimize these impacts. The objective of the present study was to evaluate the tolerance of the *Egeria densa* species, against different concentrations of lead, chromium and cadmium at the laboratory level, the work carried out consisted of three phases: (1) Determination of concentrations of heavy metals present in the water column and sediments of Yahuarcocha lake, using the atomic absorption photospectrometry technique, the results indicated the presence of these metals as follows: the range in the water samples for the Cd metal (0.0001-0.0002mg/kg), Cr (0.0002-0.012mg/kg) and Pb (0.0005-0.001mg/kg), in the sediment samples the concentration ranges for the three metals they were: Cd (0.1-0.2mg/kg) Cr (17.25mg/kg) and Pb (5.8-6.8mg/kg). (2) The tolerance evaluation of the *E. densa* species against 5ppm, 10ppm and 15ppm of Cd, Cr and Pb was carried out in the Environmental Research Laboratory (LABINAM), the performance of the species against metallic concentrations was positive, at none stage of the experiment did they show signs of wilting or worse, mortality. (3) Was generated a methodological guide for this study in order to encourage the academic and scientific community to replicate this kind of study and propose strategies for the restoration of aquatic ecosystems.

Key words: Tolerance, concentration, evaluation, pollutant, performance.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 Revisión de antecedentes

La problemática por el impacto de las actividades humanas en el ambiente se ha evidenciado cada vez más a través del tiempo, por lo que no se pueden dejar pasar por alto los efectos causados al ambiente, del cual se sostienen las dinámicas socioeconómicas y culturales. Por esta razón, apareció la preocupación de continuar con los procesos de crecimiento económico, previniendo y mitigando al máximo los impactos ambientales sobre los ecosistemas y así conservar sus funciones, con el fin de garantizar a las futuras generaciones la satisfacción de sus necesidades (Garzón , Rodríguez y Hernández, 2017).

Las múltiples causas de polución de ecosistemas pueden afectar principalmente a los recursos hídricos, los principales elementos contaminantes desde un punto de vista global son: materia orgánica, organismos patógenos presentes en aguas residuales, pesticidas y fertilizantes utilizados en las actividades agrícolas y metales pesados generalmente producto de procesos mineros e industriales (Greenfacts, 2006). Los agentes contaminantes pueden presentarse en cualquiera de los estados de la materia y los metales pesados no son la excepción (Rizzo, Daga, Arcagni, Perez, Bubach, Sanchez, Ribeiro y Arribére, 2010).

La depuración de aguas contaminadas con agentes patógenos han hecho que la bioremediación se convierta en una alternativa atractiva y prometedora a las técnicas convencionales. Sin embargo a pesar de los beneficios de biorremediación, existen algunas dificultades en la aplicación debido a las restricciones impuestas por el sustrato y variabilidad ambiental, el potencial limitado de biodegradación y la viabilidad de los microorganismos de origen natural, entre otras (Garzón et al. 2017). En estas nuevas alternativas las plantas acuáticas funcionan como filtros biológicos, removiendo sustancias tanto biodegradables como no biodegradables, nutrientes, sustancias tóxicas y microorganismos patógenos.

Para atenuar la problemática la fitoextracción es la cualidad de aquellas especies vegetales que poseen la capacidad de acumular y tolerar altas concentraciones de metales en el tejido cosechable (Tariq y Azka, 2016). Existen estudios con varias especies de diferentes taxones y una amplia cantidad de metales pesados que confirman la gran capacidad de las plantas en fitorremediación; hacen referencia que las especies: *Salvinia natans* Kunth., *Eichhornia*

crassipes Mart., *Lemna minor* L., *Egeria canadensis* Michx., *Pistia stratiotes* L. fueron sometidas a evaluaciones de contenidos de clorofila, proteína y carotenoides tras haber sido expuestas a diferentes concentraciones de: Cu^{2+} , Zn^{2+} y Cd^2 para determinar la capacidad de absorción de estos metales, al concluir el respectivo estudio se demostró la efectividad de fitorremediación de los contaminantes individualmente e incluso se obtuvo mejores resultados con los metales pesados juntos (Buta, Torok, Csog, Zongo, Cantor, Buta y Majdik, 2014).

Investigaciones de fitoremediación que presentan potencialidad de ser aplicadas en el cultivo de cacao, dada la disponibilidad del material con el que se trabajó. Tariq y Azka (2016) señalaron que los hiperacumuladores poseen diferentes potenciales de acumulación para diferentes metales. El estudio desarrollado por ellos a nivel de laboratorio demostró que el maíz (*Zea mays*) es un hiperacumulador para Co y Cr después de la aplicación de un quelante como EDTA, mientras que el girasol (*Helianthus annuus*) demostró ser un hiperacumulador para Cd en condiciones similares, con una remoción del 56.03 %. La planta de nabo (*Brassica campestris*) exhibió propiedades hiperacumulativas para Cr. Por otra parte, la arveja (*Pisum sativum*) se encontró que es el mejor acumulador de Pb.

En ecosistemas acuáticos en el estudio de Jaramillo, Zapata y Marulanda (2015) se evaluó la capacidad de *Egeria sp.* en la biorremediación del ion Hg a nivel de laboratorio, las plantas fueron sometidas a tres diferentes concentraciones de HgCl_2 : 0.39 mg/ml, 1.55 mg/ml y de 6.25 mg/ml, donde el porcentaje de mayor efectividad fue 1.55 mg/ml. Por lo tanto se demuestra las condiciones óptimas para mayor efectividad y la posibilidad de valerse de esta especie para futuras investigaciones. En la misma línea de investigación se encuentra el trabajo realizado por Harguinteguy, Pignata y Fernandez, (2015), donde se evaluó a *Miriophyllum aquaticum* y *E. densa* frente a concentraciones de níquel, plomo y zinc, demostrando eficiencia y resistencia a los metales pesados antes mencionados, reduciendo las concentraciones a niveles mucho más bajas que las iniciales.

Rizzo, Daga, Arcagni, Perez, Bubach, Sanchez, Ribeiro y Arribére (2010), también realiza estudios similares en el cual se determina concentraciones de elementos traza en muestras de agua, sedimento, plancton, macroinvertebrados y músculos de hígados de peces, se concluyó que los elementos con mayor presencia en los lagos estudiados fueron mercurio y plata, siendo un factor común la presencia en mayores cantidades en sectores aledaños a asentamientos humanos. Resultados similares se encontraron en el trabajo realizado en Antioquia-Colombia donde se evidencia el gran impacto negativo que provocan las actividades agrícolas en las

fuentes hídricas presentes en el lugar de estudio, incluso se señalan las marcas de plaguicidas más usados así como los organismos patógenos más severos especialmente coliformes y *E. coli* (Tobón-Marulanda, López-Giraldo y Paniagua-Suárez, 2010)

Los procesos actualmente aplicados para la remoción de metales pesados de aguas contaminadas requieren costos elevados que han llevado a la búsqueda de métodos alternativos. La utilización de macrófitas para la remoción de contaminantes de aguas tiene la ventaja de requerir menores recursos económicos y tecnológicos por lo cual podrían ser utilizadas inclusive en países en vías de desarrollo. Numerosos trabajos han estudiado el potencial y la capacidad que presentan diversas especies de macrófitas en la bioacumulación de metales (Paris, Hadad y Maine, 2000).

Según el informe de la ONU (2018), la contaminación de cuerpos de agua es uno de los principales problemas a nivel mundial, tanto en ecosistemas acuáticos continentales como en marítimos. Se menciona que también la demanda de este recurso aporta en el deterioro de ecosistemas acuáticos, debido a varios factores como: crecimiento demográfico, cambios en patrones de consumo, desarrollo económico y demás variables. Los agentes, elementos, compuestos u otras sustancias contaminantes se generan de fuentes naturales como la descomposición de materia, erupciones volcánicas y procesos geológicos, pero en mayor grado son de origen antropogénico, minería, agroquímicos, actividades industriales, lubricantes, petroquímica entre otros. (Estrada, Gallo y Nuñez, 2016)

En Ecuador la limnología es una rama de estudio en crecimiento. En la zona norte desde el año 2013 se viene ejecutando campañas de monitoreo mensual en proyectos de investigación desarrollados por la academia (Universidad Técnica del Norte), con la finalidad de determinar el estado trófico en lagos como Yahuarcocha, San Pablo y Mojanda. Los estudios se basan en parámetros físico-químicos como: temperatura (°C), presión barométrica (mmHg), oxígeno disuelto (mg/l y %), pH (potencial hidrógeno), conductividad (μS/cm), visibilidad secchi (m), clorofila *a* (ml/L), nitrógeno total, fósforo total y parámetros bióticos como fitoplancton, zooplancton, macrófitas y macroinvertebrados

El lago Yahuarcocha es un ecosistema acuático muy importante que identifica a la provincia de Imbabura por dos aspectos principalmente: atrae el turismo local y extranjero lo que permite la dinamización económica de sus pobladores, por otro lado, representa un lugar estratégico para la conservación de muchas especies de flora y fauna. Pero hasta el momento no se ha

desarrollado un estudio que identifique las concentraciones de metales pesados presentes en sedimento y columna de agua, aunque los estudios desarrollados desde 1979 muestran que es un ecosistema altamente contaminado especialmente por descargas de aguas con altos contenidos de materia orgánica proveniente de las actividades domésticas y económicas del poblado aledaño, sumado al que se genera en la parte alta de la micro cuenca donde se aporta considerables cantidades de agua cargadas de nutrientes orgánicos y metales pesados.

Escaleras (2016), determinó que la calidad del agua del lago Yahuarcocha es muy contaminada, debido a que los valores expuestos por el sistema fue de 2.57 en el índice de saprobiedad, en el mismo estudio la comunidad de macroinvertebrados estaba compuesta por: 5 órdenes, 9 familias, 13 géneros y un total de 1188 individuos: Haplotaxida (Naididae, Haplotaxidae), Diptera (Ephydriidae, Chironomidae), Basommatophora (Planorbidae, MPhysidae), Neotaenioglossa (Thiaridae, Hydrobiidae) y Rhynchobdellida (Glossiphoniidae).

Por su parte, Blomme (2014) quien trabajó en la limnología general del lago Yahuarcocha menciona que existe un mayor porcentaje de plantas emergentes entre las cuales están *S. californicus*, *T. latifolia* y *A. donax*, dentro de la vegetación sumergida indica a *E. densa*, *Potamogeton sp.*, *Myriophyllum sp* y en la vegetación flotante señala a *Azolla sp* y *E. crassipes*, también identificadas en el estudio de Pabón (2015) y actualmente por las condiciones de eutrofización la especie *E. densa* no está presente en el lago, y era la única especie totalmente sumergida registrada en este ecosistema acuático.

En cuanto al componente fitoplanctónico en la investigación realizada por Caicedo (2016) se menciona que los géneros *Fragilaria* y *Cylindrospermopsis* llegaron a ser los de mayor abundancia a lo largo del estudio, siendo la turbidez la variable ambiental más influyente en la fluctuación poblacional. Basado en la composición y estructura de la comunidad zooplanctónica también se pudo determinar la presencia de especies indicadoras de eutrofia en el lago Yahuarcocha (Cabrera, 2015). Alba (2010), se refiere al lago Yahuarcocha como un ícono que identifica a la provincia de Imbabura. Representa un lugar estratégico para la conservación de muchas especies de flora y fauna. La presente investigación se enfoca en evaluar los niveles de tolerancia de Pb, Cr y Cd de la especie *E. densa* frente a diferentes concentraciones que pueden existir en la columna de agua y en el sedimento del lago Yahuarcocha a nivel de laboratorio y proponer estrategias de fitorremediación como alternativa para el mejoramiento de las condiciones ecológicas y calidad de agua de este ecosistema

1.2 Problema de investigación y justificación

En la sociedad del siglo XXI, la contaminación ambiental se posiciona como uno de los problemas más importantes, incrementado exponencialmente la pérdida de calidad del aire, del recurso hídrico y de suelos disponibles para actividades agrícolas (Singh, Sharma, Agrawali y Marshall, 2010; Chen, Huang, Weindorf, Rajan, Liu y Niederman, 2013).

La tasa de contaminación del agua puede ser estimada en 2000 millones de metros cúbicos diarios. Se hace evidente una crisis de este recurso para los próximos años, lo que podría comprometer el cumplimiento de uno de los objetivos de Desarrollo del Milenio de la Organización de Naciones Unidas (ONU-DAES, 2005). En septiembre de 2015, la asamblea general de la ONU, acordó como objetivo: “asegurar la disponibilidad y la gestión sostenible de agua y saneamiento para todos”, otorgándole al agua un carácter prioritario para todos los países miembro

Al enfocarse en la gravedad de los problemas de contaminación sobre los que la biorremediación interviene, como lo es la contaminación por metales pesados, COV, PCBs, etc, que causan problemas de salud pública y degradación de los ecosistemas, es prioritario el tratamiento biológico y avanzado con el fin de disminuir la concentración de estos compuestos en las aguas residuales, suelo y aire (García, Pérez y Cocero, 2007).

El boletín de Maridueña et al. (2011) del Instituto Nacional de Pesca menciona que este ecosistema se ha visto altamente contaminada especialmente por descargas de aguas con altos contenidos de materia orgánica proveniente de las actividades domésticas y económicas del poblado del mismo nombre, sumado al que se genera en la parte alta de la microcuenca donde se aporta considerables cantidades de agua cargadas de nutrientes orgánicos y metales pesados.

Es clara la necesidad de realizar nuevas investigaciones que logren resolver estas problemáticas, para que la biorremediación se convierta en una tecnología viable en los diferentes sectores y niveles de desarrollo y pueda ser complementaria en los sistemas de tratamiento tradicionales que se vienen implementando. El éxito, radica en continuar el desarrollo de los trabajos científicos y de ingeniería que proporcione bases reales del conocimiento.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar los niveles de tolerancia de *E. densa* para plomo, cromo y cadmio a nivel de laboratorio.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la presencia (niveles) de cromo, plomo y cadmio en la columna de agua y en el sedimento del lago Yahuarcocha.
- Determinar la tolerancia de *E. densa* para plomo, cromo y cadmio a diferentes concentraciones.
- Generar una guía de aplicabilidad de fitorremediación con *E.densa*, para plomo, cromo y cadmio.

1.4 Hipótesis

Para el presente estudio se propuso la siguiente hipótesis

HIPOTESIS NULA

Las concentraciones metálicas no inciden en el crecimiento de *E. densa*.

HIPOTESIS ALTERNATIVA

Las concentraciones metálicas si inciden en el crecimiento de *E. densa*.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Marco teórico referencial

2.1.1 Ecosistemas acuáticos

La humanidad está definiendo un nuevo tiempo geológico. La era del Antropoceno está marcada por cambios en procesos geológicos, regímenes hidrológicos, estructura de la biosfera, entre otros procesos, debido a la expansión humana sobre el paisaje en todo el mundo. La alteración del ciclo biogeoquímico, la alta carga de contaminantes en los recursos hídricos, la deforestación desenfrenada, el aumento de las emisiones de gases de efecto invernadero a la atmósfera, la eutrofización y las pérdidas de biodiversidad son algunas indicaciones que reflejan la presión humana sobre varios ecosistemas, especialmente los acuáticos (Bozelli, 2019), (Xing, Wu, Hao, Huang y Liu, 2013). Por lo tanto, aquí revisamos algunos aspectos de una gran influencia antropogénica en los ecosistemas.

Según RAMSAR (2013), los humedales representan un ecosistema de transición entre el medio terrestre y el medio acuático donde confluyen procesos químicos y biológicos que son de fundamental importancia para el funcionamiento de los lagos (O'Sullivan, 2005). Actualmente, sigue produciéndose pérdida de humedales, con efectos negativos directos y mensurables en la naturaleza y las personas. La perspectiva mundial sobre los humedales es aumentar los conocimientos acerca del valor de los humedales y presentar recomendaciones para garantizar que los humedales sean conservados y se usen racionalmente, así como que sus beneficios sean reconocidos y valorados por todos RAMSAR (2018).

Los humedales son ecosistemas de alto beneficio ya que controlan la erosión a través de procesos de disipación y retención de sólidos además capturan sedimentos y filtran contaminantes mejorando la calidad de agua en lagos (Ruiz-Sevilla, 2002). Los humedales han sido descritos como los riñones del paisaje por las funciones que ellos realizan en el ciclo hidrológico y geoquímico de los nutrientes, ya sea de fuentes naturales o humanas, como transformadores de materia orgánica e inorgánica, los humedales tienen un papel importante en el ciclo de nutrientes de las cuencas (Mitsch y Gosselink, 2015)

2.1.1 Contaminación de ecosistemas acuáticos

Durante décadas, la humanidad ha colonizado cada vez más ambientes acuáticos sin ninguna preocupación. Como resultado, los lagos, ríos y embalses se están degradando a nivel mundial. Aunque los efectos interactivos de los futuros procesos antrópicos son complejos, gran parte del conocimiento actual sugiere que es probable que estas presiones aumenten en magnitud y frecuencia en los próximos años. Por lo tanto, los resultados científicos deben articularse en una perspectiva integradora para ampliar nuestra comprensión de la gestión de los recursos hídricos (Martin, McDaniel, Hughes y Hunter, 2011).

2.1.2 Metales pesados

En cuerpos hídricos y humedales la contaminación por metales pesados es una de las que mayor preocupación ha generado (Abdel y Goher, 2015). Todos los metales pesados son reconocidos como contaminantes tóxicos. En las zonas más contaminadas del mundo los riesgos para la salud exponen a más de 10 millones de personas en varios países (ENS, 2006). En los lagos las concentraciones de metales pesados dependen mucho de su distribución y las fuentes principales naturales de estos elementos traza son la meteorización y el lixiviado de las rocas y suelos de la cuenca. Por otro lado, las actividades humanas tanto: domésticas, agrícolas e industriales constituyen los impactos antrópicos más severos hacia los lagos (Tulonen, Pihlström, Arvola y Rask, 2006).

2.1.2.1 El plomo (Pb)

Metales como el plomo (Pb) que es un elemento que tiene un amplio rango de dispersión antropogénica, debido a su uso en las industrias de baterías, explosivos, pigmentos, reactivos químicos, compuestos para soldadura, industria hidrocarburífera. El plomo se encuentra de manera aislada o combinada en forma de minerales. Se encuentran en la corteza terrestre donde se depositan en la parte superficial o en sus profundidades, también se los encuentra disueltos en los cuerpos de agua, constituyendo lo que se conoce como ciclos hidrogeológicos responsables de gran parte de la contaminación del aire, suelos agua y alimentos (Burger y Román, 2010).

2.1.2.2 El cadmio (Cd)

El cadmio es un metal pesado considerado como uno de los elementos más tóxicos, junto con el mercurio y el plomo. Se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza asociado a distintos minerales. A su vez, el hombre ha contribuido enormemente a su dispersión desde los inicios de la actividad minero-metalúrgica de otros metales, y más tarde, al descubrirse la gran utilidad del cadmio en el ámbito industrial (Sánchez, 2016). Las fuentes antrópicas del cadmio son: la minería, el uso de fertilizantes fosfatados, la fundición de metales, la quema de combustibles fósiles, la fabricación de baterías, pigmentos, cemento, y plásticos (Pernía, Mero, Muñoz, Bravo, Morán, Zambrano y Torres. 2016).

2.1.2.3 El cromo (Cr)

El Cr en los vertidos se encuentra en estado trivalente, pero se puede oxidar fácilmente a Cr (VI). El Cr (III) es relativamente insoluble, no tóxico, y normalmente precipita como hidróxido, mientras que el Cr (VI) es mucho más soluble y tóxico. El Cr es un metal que se absorbe fácilmente por las plantas. La absorción de Cr (III) es un proceso mayormente pasivo, mientras que la absorción de Cr (VI) está mediada metabólicamente (Murcia, 2014). La forma principal de este elemento que llega a depositarse en medios acuáticos específicamente en el sedimento es el $\text{Cr}(\text{OH})_3$, la misma que permanece en suspensión o se adhiere a otras partículas mayores, llegando a precipitar e incorporarse en el sedimento (Adriano, Wenzel, Vangronsveld y Bolan, 2004).

El grado de toxicidad de los elementos inorgánicos depende en gran medida de la persistencia en el ecosistema, forma química y concentración. En este grupo se encuentran: elementos metálicos, elementos no metálicos y algunos de ellos también pertenecen a otro subgrupo denominados elementos traza que en proporciones ideales se constituyen en piezas fundamentales para la nutrición y crecimiento de las plantas como: V, Sn, Se, Ni, F, Cr, Zn, Mo, Mn, Fe, Co, Cu y As, siendo los principales micronutrientes u oligoelementos (Navarro-Aviñó, Aguilar-Alonso y López-Moya, 2007). Por otro lado, los contaminantes orgánicos son poco reactivos y se acumulan en bajas cantidades siendo menos tóxicos que los inorgánicos. En este grupo se encuentran: los plaguicidas (fungicidas, herbicidas e insecticidas), productos farmacéuticos, explosivos, compuestos aromáticos empleados en la industria de los colorantes, disolventes clorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos y del petróleo (Cherian y Oliveira, 2005).

2.1.3 Restauración de ecosistemas acuáticos

En la actualidad existe mucha preocupación por tratar de mitigar la contaminación generada por las diferentes actividades antrópicas que han terminado por desestabilizar el equilibrio natural de los ecosistemas (Zhang, Jin, Di, Zhu y Shan, 2016), en consecuencia ha surgido una alternativa para contrarrestar esta problemática, se trata de la fitorremediación, tecnología que deriva de la corriente mayor que es la biorremediación, se ha visto que la fitorremediación se ha convertido en una tecnología sostenible y rentable que utiliza plantas a fin de minimizar el potencial peligro de contaminación en cuerpos de agua, aire y tierra (Mallick, 2003; De Olivera, 2004; Audet y Charest, 2007).

La restauración ambiental sigue siendo una actividad restringida en el mundo y mucho más en aguas tropicales. Los factores principales para la restauración son los costos y conocimiento, la ciencia y la práctica de la restauración se están extendiendo y son consistentes en las regiones desarrolladas del mundo, no son transferibles de manera simple y directa. Los principios de la limnología son universales, pero las situaciones a las que deben aplicarse son diferentes, e incluso si los problemas son similares, las soluciones deberían ser diferentes. La biomanipulación como estrategia para restaurar las aguas dulces es un ejemplo. Las diferencias significativas en las interacciones bióticas entre ambientes templados y subtropicales y tropicales hacen que sea muy difícil transferir directamente y aplicar estrategias de restauración biológica (Jeppesen, Sondergaard, Mazzeo, Meerhoff, Branco, Huszar y Scasso, 2005).

2.1.4 Fitorestauración

Las tecnologías de tratamiento y depuración han venido innovándose cada vez más para ayudar en la problemática de contaminación de ecosistemas acuáticos (George, et al., 2016). La biorremediación se ha constituido en una alternativa económica y ecológica donde se utilizan organismos vivos que tienen la capacidad de metabolizar los agentes contaminantes hasta reducirlos a productos menos tóxicos que puedan reintegrarse naturalmente (Rosa y Tigris, 2007). Existen algunas variantes de esta tecnología aplicable a sistemas contaminados con metales pesados como: fitoextracción, fitoatransformación, fitoestabilización y rizofiltración, fitovolatilización (Olguín y Sanchez, 2012) (Tabla 1). Todas estas variantes se pueden realizar a nivel de laboratorio para posteriormente proponer estrategias de fitorrestauración, lo cual significa la repoblación de flora especializada en las áreas degradadas, principalmente con especies de rápido crecimiento (Robinson, Schulin, Noeack, Roulier, Menon, Clothier, Green y Mills, 2006; Jing, He y Yang, 2007).

Tabla 1. Tipos de fitorremediación.

No	Proceso	Mecanismo	Contaminante
1	Rizofiltración	Acumulación en raíces	Orgánico e inorgánico
2	Fitoestabilización	Complejación	Inorgánico
3	Fitoextracción	Hiperacumulación	Inorgánico
4	Fitovolatilización	Volatilización por hojas	Orgánico e inorgánico
5	Fitotransformación	Degradación en la planta	Orgánico

Fuente: Shakoore et al. (2013). *Heavy metal pollution, a global problem and its remediation by chemically enhanced phytoremediation: A Review*, 15.

La capacidad de algunas plantas para acumular metales pesados en niveles extraordinariamente altos ha atraído un interés creciente en los últimos años. Desde la ciencia del suelo hasta la fisiología vegetal. Pero es su uso potencial en la limpieza verde de metales pesados en ecosistemas contaminados (fitorremediación) la que ha generado un gran interés en experimentación e investigación aplicada y básica (Olguín y Sánchez, 2012)

2.2 Marco Legal.

2.2.1 Constitución política de la república del Ecuador (2008)

En el nuestro país desde el año 2008 rige la “Constitución Política de la República del Ecuador”, la misma que es el documento máximo de orden legal, en la que la naturaleza figura como un componente con derechos, la conforman leyes que pretenden promover un modelo de desarrollo sostenible de los recursos naturales renovables y no renovables Art. 12. Se menciona el derecho indispensable para el ser humano sobre el agua, haciendo énfasis en la calidad de patrimonio estratégico de uso público que representa. Art. 14, Art. 71, Art. 73 Se menciona los derechos que tienen los elementos presentes en la naturaleza, así como la de los habitantes además de los incentivos y principios establecidos en la constitución de la república. Promoviendo un enfoque de respeto íntegro a hacia la *paccha mama* con el firme propósito de buscar el SUMAK KAWSAY Art. 395. Se menciona las garantías constitucionales que promueve el estado en materia ambiental y participación interactiva estado-comunidad. Art. 400. Se menciona la protección sobre la biodiversidad de manera intergeneracional. Art. 403. Se menciona el compromiso del estado en instancias diplomáticas internacionales de convenios en materia de conservación y manejo sustentable de la biodiversidad. Art. 404, Art. 406. Se menciona el compromiso de proteger el patrimonio natural del estado, así como de su gestión y recuperación, partiendo desde los principios del ordenamiento territorial.

2.2.2 Código Orgánico Ambiental

Art 38. Menciona claramente los objetivos de mantener y proteger los cuerpos de agua tanto superficial como subterránea. Art 191, Se menciona las competencias de los Gobiernos Autónomos Decentralizados en temas de monitoreo y saneamiento tanto en aire, agua y suelo y el compromiso de actualizaciones periódicas de este código orgánico.

Ley Orgánica de los Recursos Hídricos, Uso y Aprovechamiento del Agua

En los Art. 12, art. 17. Se menciona la responsabilidad de la Autoridad Única del agua, y población en general del manejo sustentable e integrado de las fuentes y cuencas hidrográficas, así como del caudal ecológico y la responsabilidad de mantener en la cantidad y calidad óptimas para el correcto desarrollo de la biodiversidad acuática. Art. 13. Se menciona la prohibición en cambios de uso de suelo en cualquier ecosistema que almacene agua

Plan Nacional de Desarrollo 2017-2021- Toda Una Vida

Dentro de este plan podemos encontrar el Objetivo 3: Que propine garantizar los derechos de la naturaleza para las actuales y futuras generaciones. Se propone una gobernanza que garantice el cuidado de reservas naturales frente a actividades extractivas especialmente cuando estas amenacen áreas protegidas.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1 Descripción del lago Yahuarcocha

Yahuarcocha se encuentra ubicado en la Provincia de Imbabura dentro de la jurisdicción del cantón Ibarra, a una altitud aproximada de 2.200 m.s.n.m, En una fuerte depresión de origen volcánico (Dummont, 1994), el estado de conservación en cuanto a la flora es crítico, debido al fuerte impacto que ejercen las poblaciones asentadas a los alrededores de la microcuenca, dichas poblaciones han alterado de manera irremediable la vegetación natural y la ha reemplazado con vegetación de cultivos con especies ornamentales y especies de interés económico como el *Eucaliptus sp* y *Pinnus sp*, las mismas que se pueden observar varias plantaciones en la parte alta de la microcuenca (Figura 1).

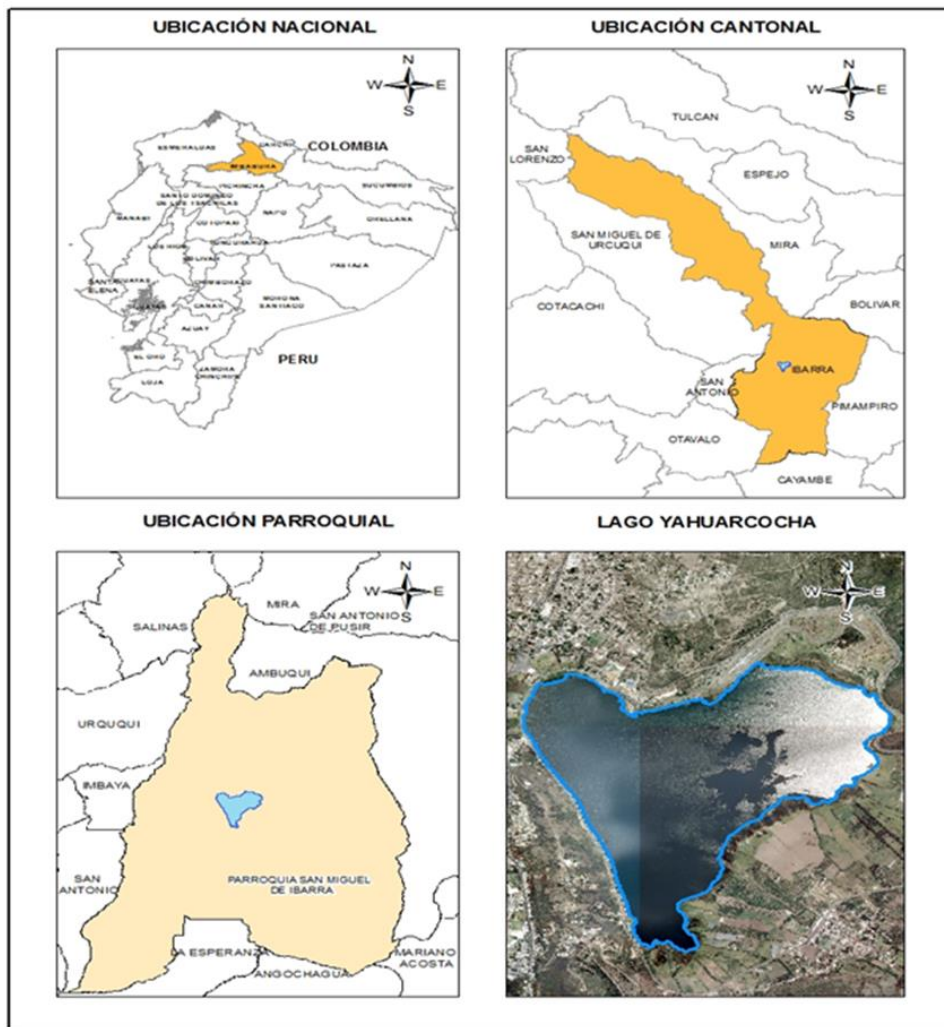


Figura 1. Ubicación del lago Yahuarcocha

La temperatura oscila entre los 7 y 16 °C y la baja precipitación de la zona (hasta 3000 mm anuales). Yahuarcocha presenta dos épocas climáticas: época lluviosa desde enero hasta mayo y desde septiembre hasta diciembre y la época seca de junio hasta agosto (INAMHI, 2014). La cercanía de la ciudad de Ibarra con el lago ha provocado desplazamientos zonales de la población que ahora ha "colonizado" estas zonas para urbanizarlas, con lo que los remanentes de la vegetación han sido desplazados por otras actividades.

3.2. Metodología

3.2.1 Establecimiento de puntos de muestreo

Como fase inicial se determinó los diferentes puntos de muestreo de agua y sedimentos, siguiendo la metodología usada por el Instituto Nacional de Pesca en el año 2003 que define puntos de muestreo de acuerdo a la incidencia antrópica, por ejemplo, puntos de descarga de la población, zona hotelera, zona recreativa, etc., estableciendo nueve estaciones de muestreo (INP, 2003) (Figura 2).

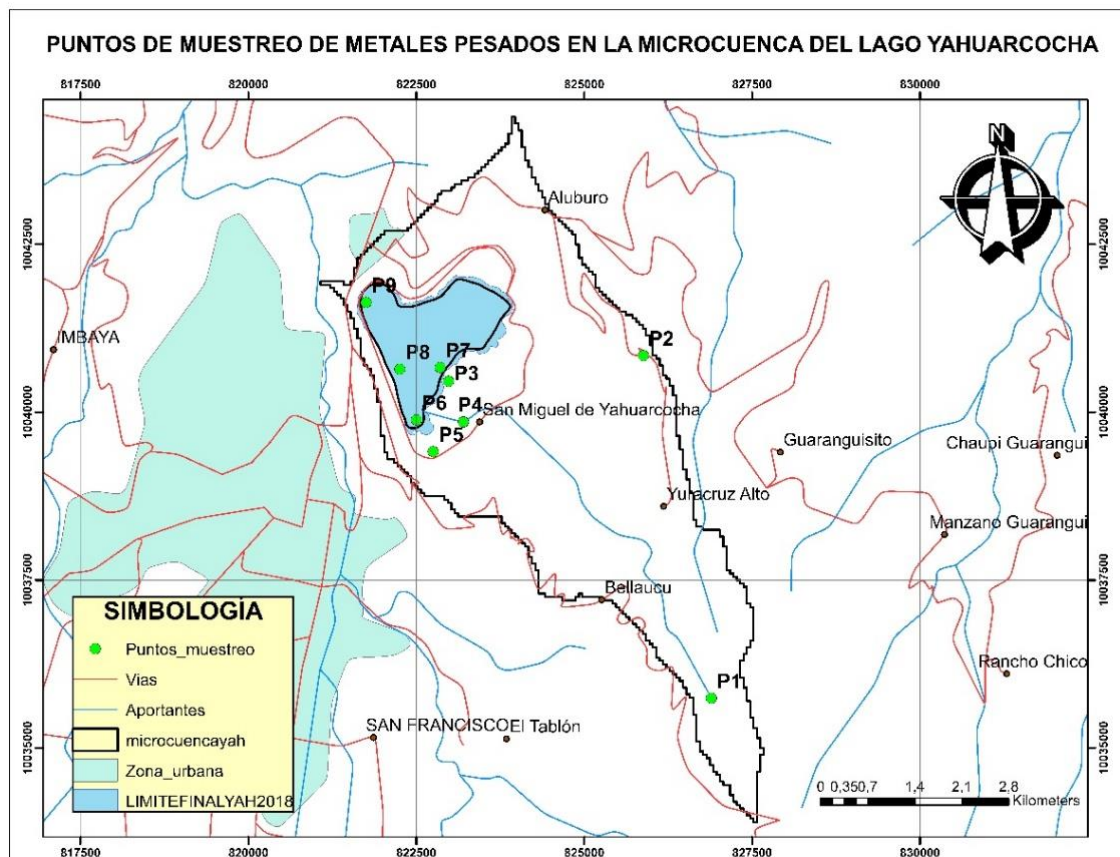


Figura 2. Establecimiento de puntos de muestreo.

Las muestras de agua y sedimento en el Lago Yahuarcocha se tomaron de acuerdo a la metodología utilizada en por el instituto nacional de pesca en el año 2003, fueron 9 puntos de muestreo. Los puntos de muestreo seleccionados fueron los más representativos del lago (Tabla 2). Este procedimiento con el fin de determinar la cantidad de metales pesados presentes en la columna de agua y sedimento del ecosistema, una vez realizado que se obtuvo los resultados de los análisis se pudo determinar las concentraciones de las diluciones a realizarse en los bioensayos de laboratorio.

Tabla 2. Puntos de muestreo de la microcuenca del lago Yahuarcocha

Punto de Muestreo	Código de Muestra	Profundidad
Vertiente en parte alta de la microcuenca.	P1	Superficial
Caída de agua en la parte media de la cuenca.	P2	Superficial
Ingreso de aguas residuales Urbanas a la planta de tratamiento	P3	Superficial
Aporte de quebrada Polo Golo. 300 m antes del ingreso a la laguna.	P4	Superficial
Canal de aporte del rio Tahuando. 200m antes del ingreso a la laguna	P5	Superficial
Ingreso a la laguna	P6	Superficial
Laguna, punto de descarga de la planta de tratamiento	P7	Superficial
Laguna, punto de descarga de la planta de tratamiento	P7	1 metro
Punto de mayor profundidad de la laguna	P8	1 metro
Punto de salida de aguas de la laguna	P9	Superficial

3.2.1.1 Muestreo de agua y sedimentos en el lago Yahuarcocha

En cada punto establecido se tomó muestras de agua superficial y a 1 metro de profundidad del lago y una muestra de sedimento, el volumen de cada muestra fue considerado de acuerdo con la metodología de análisis, para el presente estudio fue plasma de acoplamiento inductivo Espectrometría de masas (ICP-MS), posteriormente las muestras colectadas fueron enviadas al laboratorio GRUENTEC establecido en la ciudad de Quito, dicha empresa cuenta con acreditación No. SAE LEN 18-004, otorgado por el servicio de acreditación ecuatoriano. Para

la conservación de muestras de sedimentos se elaboró una cadena de custodia para el muestreo y transporte de las muestras de sedimentos que garanticen la integridad de las mismas (ASTM, 2000).

Las muestras se obtuvieron mediante un recorrido por la cubeta lacustre Yahuarcocha, utilizando el GPS GARMIN con la proyección DATUM WGS84 17S. Las muestras se obtuvieron con el muestreador de sedimento tipo Beckeer en un volumen de 50 cm de profundidad de la columna vertical en el muestreador. Las muestras colectadas se las colocó en envases tipo *ziploc* debidamente selladas y etiquetadas, posteriormente se colocó en un contenedor refrigerado con gel refrigerante a 4°C (Cifuentes, 2016). Este procedimiento se realizó en cada una de las estaciones definidas, en el lago y en el canal de abastecimiento proveniente del río Tahuando, al mismo tiempo se realizó el análisis físico del agua en cada punto de muestreo usando el equipo multiparámetro YSI profesional plus, este procedimiento se realizó utilizando el bote perteneciente al LABINAM, los datos obtenidos se registraron en la respectiva ficha de campo.

3.2.2 Muestreo de material vegetal

Para la obtención de *E. densa* en el lago San Pablo, se procedió de acuerdo al texto Standard Methods, en este texto indica que se puede realizar utilizando directamente las manos, si las condiciones son favorables, caso contrario se puede utilizar algún artefacto que lo permita. Para extraer los especímenes se debe asegurar que sean parecidos una de otra en lo posible, tanto en grosor como en longitud y deben encontrarse en buen estado fitosanitario. Las muestras colectadas fueron colocadas en recipientes que contengan agua del mismo ecosistema de donde fueron extraídas (Lago San Pablo) hasta ser transportadas al Laboratorio de investigaciones ambientales LABINAM.

3.2.2.1 Instalación de biorreactores

En el laboratorio LABINAM, las muestras obtenidas fueron lavadas cuidadosamente con agua destilada con la finalidad de depurar cualquier impureza que pueda inferir en los ensayos y en posteriores análisis de los resultados. Las muestras de *E. densa* obtenidas en el Lago San Pablo, fueron sometidas a un régimen de adaptación de 7 días. Las muestras vegetales que fueron lavadas anteriormente fueron dispuestas en bonches de 6 tallos de *E. densa* cortadas en una longitud de 30cm para determinar la tasa de crecimiento longitudinal en condiciones de contaminación por metales pesados (Figura 3).

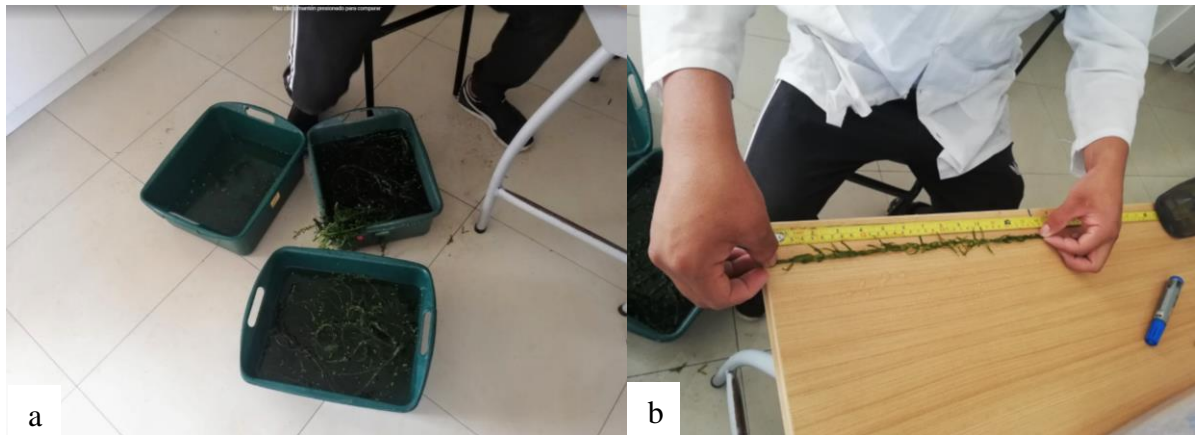


Figura 3. Tratamiento de muestras: a) limpieza de *E.densa* y b) medición de muestras de *E. densa*

Posterior al periodo de adaptación fueron sometidas a diluciones metálicas en recipientes de vidrio de 5000 ml con tres concentraciones de metales pesados 5ppm, 10ppm y 15ppm, con tres sales metálicas diferentes: nitrato de plomo $Pb(NO_3)_2$, nitrato de cadmio $Cd(NO_3)_2$, cromato de potasio K_2CrO_4 en el periodo de 15 días. Se realizó 3 tratamientos con 3 repeticiones y un control, el registro de crecimiento longitudinal se realizó al inicio y al final del experimento (Figura 4).



Figura 4. Disposición de muestras: a) Adaptación *E.densa* y b) Toma de muestras de biorreactores

Las diluciones madre se realizaron a fin de obtener una concentración neta de 1000ppm de (Pb, Cr y Cd), posteriormente serán añadidas a cada bioreactor, para determinar el peso de la sal metálica a diluir en 1000ml de agua destilada, la ecuación se la realiza a través de una regla de tres simple y está determinada por los siguientes datos: masa molecular de la sal metálica, masa atómica del elemento metálico y volumen.

$$\frac{\text{masa molecular de sal metálica}}{x} * \frac{\text{masa atómica de metal}}{\text{Volumen}}$$

Despejando, la fórmula:

$$x = \frac{\text{masa molecular de sal metálica} * V}{\text{masa atómica de metal}}$$

Fórmula para K_2CrO_4 :

$$x = \frac{194.19g/mol * 1l}{52g/mol} = 3.73g/l$$

Fórmula para $Pb(NO_3)_2$:

$$x = \frac{331.2g/mol * 1l}{2017.2g/mol} = 1.597g/l$$

Fórmula para $Cd(NO_3)_2$:

$$x = \frac{236.42g/mol * 1l}{112.41g/mol} = 2.1g/l$$

Para la determinación del volumen necesario de la solución madre a añadir en cada biorreactor se realizó la siguiente ecuación:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

Donde:

$C1$: ppm de solución madre (1000mg/l)

$C2$: ppm deseado (5,10 y 15mg/l)

$V1$: x

$V2$: Volumen de solución receptor (5000ml)

Despejando la fórmula:

$$V1 = \frac{C2 * V2}{C1}$$

Debido a que las soluciones madres para cada metal se encuentran a 1000mg/l, el volumen a añadir será el mismo para las tres soluciones madre, así:

Para añadir 5ppm:

$$V1 = \frac{5mg/l * 5000ml}{1000mg/l} = 25ml$$

Para añadir 10ppm:

$$V1 = \frac{10\text{mg/l} * 5000\text{ml}}{1000\text{mg/l}} = 50\text{ml}$$

Para añadir 15ppm:

$$V1 = \frac{15\text{mg/l} * 5000\text{ml}}{1000\text{mg/l}} = 75\text{ml}$$

Adicionalmente se instaló un ensayo que contenía agua de llave sin cloro, 6 tallos de *E. densa* de 30 cm de longitud y en algunos de ellos se añadió nutrientes durante 8 días, con la finalidad de poder determinar si la presencia de dichos nutrientes influye en el crecimiento. Para ello el experimento se realizó en un lugar donde llegaba luz solar. Desde el primer tratamiento hasta el sexto tratamiento se colocó las muestras vegetales únicamente con agua, a partir del séptimo tratamiento se añadió 5.8ml de KNO_3 y 5.3ml $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ Para determinar el porcentaje de crecimiento del experimento se registró el peso de cada bonche de *E. densa*, y la longitud de los tallos antes y después del experimento.

3.2.2.2 Diseño experimental

Para el diseño experimental de los datos se realizó una prueba de estadística de Fisher para posteriormente realizar un análisis de varianza o ANOVA basado a un criterio de clasificación. Para cumplir con el objetivo de determinar el grado de tolerancia de *E. densa* frente a los metales pesados se diseñó el siguiente modelo experimental, en donde las unidades experimentales son los individuos de *E. densa* que serán seleccionadas cuidadosamente garantizando equidad en peso y tamaño para cada una de las muestras extraídas. En cada recipiente de vidrio de 5 litros de capacidad, la variable respuesta fue el porcentaje de crecimiento longitudinal y biomasa que fueron registrados al inicio y al finalizar el proceso. (Habib et al., 2019)(Tabla 3).

Tabla 3. Descripción de tratamientos

Nº Tratamiento	Composición
Control	Agua + <i>E. densa</i> (Control)
Tratamiento 1	Agua + <i>E. densa</i> + 5 ppm metal
Tratamineto 2	Agua + <i>E. densa</i> + 10 ppm metal
Tratamiento 3	Agua + <i>E. densa</i> + 15 ppm metal

Se realizaron 3 tratamientos y 1 control, los tres tratamientos con diferentes concentraciones metálicas y *E. densa* con las características mencionadas en cada repetición a evaluar, cada tratamiento fue por triplicado, este procedimiento se aplicó para cada uno de los metales pesados por separado (Figura 5).

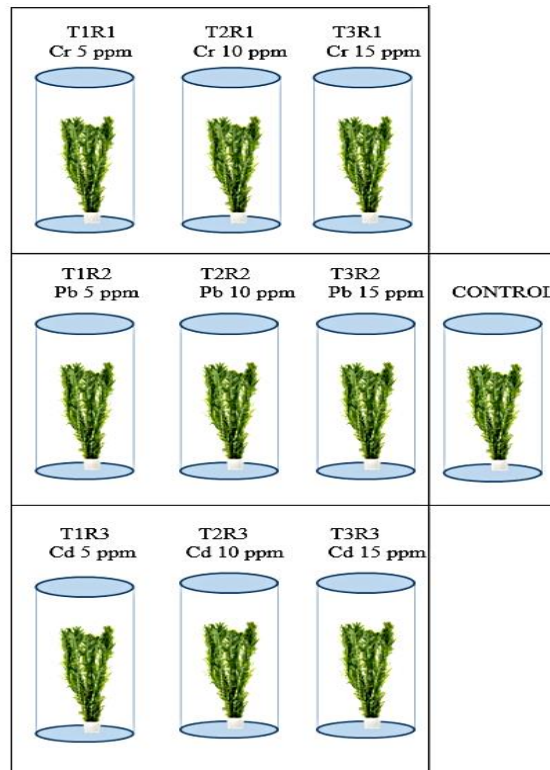


Figura 5. Diseño del experimento con unidades experimentales.

3.2.3 Redacción de guía de aplicación metodológica

Posterior a la fase de experimentación en campo y laboratorio se obtuvo datos y resultados, donde se evidenció la resistencia a 5ppm, 10ppm y 15ppm de sales metálicas que contenían, plomo, cromo y cadmio, se procedió a realizar una guía de aplicación metodológica, capaz de ser reproducido y aplicado en sistemas acuáticos afectados por contaminación de metales pesados.

Mediante revisión bibliográfica en la guía de aplicación se detalló la metodología utilizada para la obtención, manipulación y descarte del material utilizado, además en la guía se detalló las condiciones ambientales idóneas para realizar esta experimentación en laboratorio de acuerdo a lo que sugiere Shengqui et al. (2012).

3.4 Materiales y equipos

Para la presente investigación se hace necesaria la utilización de varios materiales, para la realización de los diferentes objetivos tanto para la fase de campo como para fase de laboratorio (tabla 4).

Tabla 4. Materiales, equipos e insumos

Materiales de Campo	Materiales de Laboratorio	Materiales de Oficina
ArcGis 10.4	12 cilindros de vidrio de 5000 ml	Laptop
Bote	Multiparametro YSI	Papel bond
Botas de caucho	Medidor de pH	Marcadores
Badeador	Agitadores	Lápiz
Guantes quirúrgicos	Oxigenadores	Libreta de campo
Cámara fotográfica Nikon D2300	Cajas Petri	Impresora
Transporte (camioneta)	Bandejas de aluminio	Esferos gráficos
Cubetas	Cinta métrica	Fichas de campo
Fundas ziploc	Agua destilada	
Lápiz	Pipetas de vidrio	
Combustible	Sales metálicas	
GPS-Garmin 62 sc		
Disco sechi		
Pinzas		
Ancla		
Botellas plásticas		
Tubos Falcon 50ml		
Sedimentador de barra		

CAPITULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Determinación de niveles de plomo, cromo y cadmio en agua y sedimentos en el lago Yahuarcocha

4.1.1 Determinación de niveles de plomo, cromo y cadmio en la columna de agua del lago Yahuarcocha

La cantidad de metales pesados presentes en la columna de agua, no representan mayor riesgo de toxicidad, en ningún punto muestreado la concentración de metal pesado sobrepasa el límite permisible establecido. Para el metal cadmio en las muestras analizadas existe una constante en la cantidad del metal, las cuales son menores que 0.0002mg/l y 0.001 mg/l en los diferentes puntos de muestreo, para el metal cromo existen dos puntos donde la cantidad del metal sobresale del resto, este metal pesado más abundante en los puntos 2 y 3 con 0.0035mg/l y 0.012mg/l respectivamente. Para el metal plomo las cantidades resultan ser constantes, las cantidades están en un rango de 0.001mg/l y 0.0005mg/l en los diferentes puntos de muestreo (Tabla 5).

Tabla 5. Descripción de valores de metales totales en agua del lago Yahuarcocha

Metales/ puntos de muestreo	Cadmio	Cromo	Plomo	Unidad de medida	profundidad
P1	<0.0001	<0.0002	<0.0005	mg/l	Superficial
P2	<0.0002	<0.0035	<0.001	mg/l	Superficial
P3	<0.0002	0.012	<0.001	mg/l	Superficial
P4	<0.0001	<0.0002	<0.0005	mg/l	Superficial
P5	<0.0001	<0.0002	<0.0005	mg/l	Superficial
P6	<0.0002	<0.0004	<0.001	mg/l	Superficial
P7	<0.0001	<0.0004	<0.0005	mg/l	Superficial
P7	<0.0002	<0.0002	<0.001	mg/l	1m
P8	<0.0002	<0.0004	<0.001	mg/l	1m
P9	<0.0002	<0.0004	<0.001	mg/l	Superficial

Los resultados de los análisis de las muestras de agua tomadas en los diferentes puntos evidencian la presencia de metales pesados suspendidos en la columna de agua, si bien es cierto las cantidades de metales pesados no sobrepasan los límites permisibles establecidas por la

norma de calidad ambiental y de descargas de efluentes: recurso agua, Libro VI. Anexo I (Tabla 6), no quiere decir que no se debe trabajar en biorremediación, por lo tanto se hace necesaria una intervención, integral urgente al lago, con la finalidad de revertir el impacto que en la actualidad presenta.

Tabla 6. Criterios de Calidad admisibles para la preservación de la flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuario.

Metales	Límite máximo permisible	Cantidad máxima presente en Yahuarcocha	Unidad de medida
Plomo	-	0.001	mg/l
Cromo	0.05	<0.001	mg/l
Cadmio	0.001	0.0002	mg/l

Fuente: Modificado de: Norma de calidad ambiental y de descargas de efluentes: recurso agua, Libro VI . Anexo I

Para el criterio de calidad de aguas destinadas para fines recreativos en ningún punto de muestreo sobrepasa el límite permisible establecido de 0.1 mg/kg para los metales Pb, Cr y Cd. Resultados similares se registran en el estudio realizado por García et al. (2005), los valores encontrados para Cd 0.01mg/l - 1.45 mg/l y Pb 0.03mg/l – 0.59 mg/l, las cuales están por debajo de del límite permisible de la ley Boliviana (RMCH, 1995). Del mismo modo un estudio realizado por Moreno et al. (2018), en el lago Titicaca-Perú, donde se estudió la presencia del metal plomo, en este lago está en el rango 0.001mg/l – 0.005 mg/l, lo cual indica que no sobrepasa el límite permisible de referencia, El estudio realizado en el lago Titicaca y el presente basó en la norma canadiense (ISQG).

Por otro lado, las consideraciones para establecer los puntos de muestreo del presente trabajo resultan similares al estudio realizado por Farina, Pisapia, Gonzales, y Lasso (2013), en el río Cuyuni-Venezuela, quien se basó en directrices similares al presente trabajo de titulación para establecer sus puntos de muestreo, en efecto se identificó los lugares de mayor afluencia y contacto antropogénico para determinarlos como puntos estratégicos de muestreo. La intervención antropogénica dentro de un ecosistema natural siempre significará un inminente impacto y riesgo a un desequilibrio ecosistémico, de tal modo que se debe mejorar los hábitos de los visitantes y pobladores, a fin de preservar y manejar de manera sostenible estos espacios que han sido descuidados.

4.1.2 Evaluación y determinación de niveles de plomo, cromo y cadmio en el sedimento del lago Yahuarcocha

De acuerdo a los resultados de los análisis de metales pesados se evidencia la presencia de metales pesados en el sedimento del lago, el cadmio es el metal pesado con menor presencia en cada punto muestreado con cantidades inferiores de 0.2 mg/kg, seguido por el metal plomo estando presente en el lago Yahuarcocha en el rango de 5.8mg/kg – 6.8 mg/kg, el metal pesado más abundante es el cromo con cantidades que van de 17mg/kg – 25 mg/kg, (Tabla 4). Si bien es cierto, estos metales están presentes en forma de sales metálicas solubles en agua, no hace que una intervención no sea necesaria. En los lagos las concentraciones de metales pesados dependen mucho de su distribución y las fuentes principales naturales de estos elementos son la meteorización y el lixiviado de las rocas y suelos de la cuenca. Por tal motivo se eligieron tres puntos muestrales representativos del lago como lo son los puntos: P6, P7, P8 (Tabla 7).

Tabla 7. Descripción de valores de metales totales en sedimentos del lago Yahuarcocha

Puntos de muestreo/ Metales	Cadmio	Cromo	Plomo	Unidad de medida
P7	0.2	17	6.8	mg/kg
P6	0.1	21	6.6	mg/kg
P8	<0.1	25	5.8	mg/kg

En Ecuador no existe normativa que regule los límites máximos permisibles de metales pesados en sedimentos de ríos ni lagos por lo tanto los resultados obtenidos se rigieron a lo establecido en la norma canadiense (CEQG) basados en la guía Provisional de Calidad del Sedimento (ISQG) y para Estados Unidos (NOAA, 199)(Tabla 8)

Tabla 8. Normas técnicas CEQG – ISQG, NOAA

Metal/Norma	Cadmio	Cromo	Plomo	Unidad de medida
CEQG - ISQG	0.6	37.3	35	mg/kg
NOAA	0.1 – 0.3	7 - 13	4 - 17	mg/kg

Por lo tanto se evidencia que ninguno de los tres metales analizados sobrepasa los límites permisibles para las normas referenciales así: la cantidad máxima del metal cadmio encontrada en el sedimento del lago es 0.2 mg/kg en contraste con los 0.6 mg/kg y 0.3mg/kg de las normativas canadiense y americana respectivamente, para el metal cromo se encontraron

cantidades de 17mg/kg-25mg/kg en el lago Yahuarcocha, en contraste con los límites permisibles que son: 37.3mg/kg y 13mg/kg para las normas canadiense y americana respectivamente, por lo tanto en ningún caso los resultados obtenidos sobrepasa los límites establecidos, para el metal plomo las cantidades obtenidas que están en el rango de 5.8mg/kg-6.8mg/kg, las mismas que no sobrepasan los límites máximos: 35mg/kg-17mg/kg establecidos en las normas canadiense y americana respectivamente.

Por el contrario, en el estudio realizado por Rua, Flores y Palacios (2013), en el complejo de humedales de Ayapel-Colombia indican que se encontraron con valores mucho mayores 11.8 mg/kg Pb y 93.4 mg/kg Cr de concentración de estos metales pesados, claramente indican que la presencia de la industria minera principalmente la industria aurífera, es la que mayor impacto con metales pesados provoca al sistema hídrico de la región.

En otras latitudes del mundo también se ha demostrado interés por este tipo de estudios, muestra de aquello es el estudio realizado por Lu y Cheng (2011), donde se estudiaron tres lagos eutrofizados de China (Tai, Nansi y Baiyangdian) donde los valores encontrados para los metales pesados analizados presentan un alto riesgo sanitario para el ser humano y para quienes están en contacto con las aguas de estos tres lagos, se estudió a los elementos (Cu, Zn), los valores son: 18.9 mg/kg-22.7 mg/kg y 30.5mg/kg Cu y 59.2 mg/kg-64.03 y 71.4 mg/kg Zn, los cuales contrastan con los valores presentes en Yahuarcocha. Es evidente la problemática hacia los cuerpos de agua y humedales que enfrentan territorios donde existe contaminación por metales pesados, por ello es urgente la intervención de las autoridades pertinentes. Dada la inexistencia de una ley importante para cualquier país, en Ecuador se hace necesaria y urgente la creación de una ley que controle los límites permisibles de contaminantes de sedimentos en ecosistemas acuáticos.

4.2 Tolerancia de *E. densa* a diferentes concentraciones de Pb, Cr y Cd

Los resultados obtenidos al finalizar la etapa de evaluación fueron registrados a fin de aplicar los métodos estadísticos pertinentes para este tipo de experimentación (ANOVA) basado en un criterio de clasificación

4.2.1. Evaluación de crecimiento de *E. densa* en laboratorio

Previo a la exposición frente a los metales pesados se realizó un estudio de evaluación de la tasa de crecimiento de *E. densa* en presencia de nutrientes aportantes de calcio, potasio y

nitrógeno KNO_3 y $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ Se evidenció que los nutrientes influyen positivamente en la tasa de crecimiento de la macrófita. La diferencia en la longitud inicial y final de las macrófitas es evidente en función de los nutrientes utilizados a partir del séptimo tratamiento, podemos observar que el promedio de longitud supera la tendencia de 32 cm para llegar a medir hasta 34 cm, lo mismo sucede en las diferencias del peso inicial y peso final (Tabla 9).

Tabla 9. Tratamientos realizados en laboratorio

N° tratamiento	Composición	Longitud (cm)	Peso inicial (gr)	Peso final (gr)	Longitud final Prom (cm).
1	Elodea + agua	30	14.96	17.37	32.83
2	Elodea + agua	30	16.64	17.87	32.42
3	Elodea + agua	30	16.19	18.68	33.38
4	Elodea + agua	30	16.43	18.26	32.73
5	Elodea + agua	30	14.38	15.93	32.77
6	Elodea + agua	30	16.84	18.42	32.38
7	Elodea + agua + nutrientes	30	19.86	20.36	33.68
8	Elodea + agua + nutrientes	30	17.61	19.26	34.42
9	Elodea + agua + nutrientes	30	14.9	18.96	34.12
10	Elodea + agua + nutrientes	30	15.65	18.35	34.15
11	Elodea + agua + nutrientes	30	18.87	19.05	34.88
12	Elodea + agua + nutrientes	30	19.56	22.7	33.92

En condiciones de laboratorio el crecimiento de *E. densa* se ve limitado a varios factores como: luz solar, nutrientes, temperatura, en el trabajo realizado por Shengqui et al. (2012) se trabajó en incubadoras controladas en la cual se mantuvo fotoperiodos de 12 horas de luz con intensidad lumínica de 6.500lx y 12 horas de oscuridad, temperatura de 25°C, estas condiciones optimizan el desarrollo de las plantas para aplicarlas en este tipo de investigación. En condiciones naturales la tasa de crecimiento y supervivencia depende de varios factores tales como, disponibilidad de nutrientes, nivel de conservación del medio, en algunas latitudes del mundo este género es considerada una plaga debido a la sobrepoblación existente mientras que en otros puntos su población se ha ido disminuyendo y en el peor de los casos ha llegado a desaparecer.

4.2.2 Tolerancia de *E. densa* frente a plomo

Para el primer bioensayo se utilizó nitrato de plomo $Pb(NO_3)_2$ como agente contaminante. Se realizó 3 tratamientos con concentraciones de 5ppm, 10 ppm y 15 ppm y los respectivos controles por triplicado cada uno. En el tratamiento expuesto a 5 ppm de $Pb(NO_3)_2$ las muestras vegetales registraron un promedio de 34.77cm de longitud, este tratamiento resultó ser el de menor desarrollo longitudinal, en contraste a las muestras vegetales del control que registraron un promedio de 39.66cm de longitud, en un rango intermedio se encuentra los tratamientos que fueron expuestos a 10ppm y 15ppm de material contaminante, se registraron promedios de 35.38cm y 35.61cm de desarrollo longitudinal respectivamente (Tabla 10).

Tabla 10. Registro de longitud a diferentes porcentajes de nitrato de plomo $Pb(NO_3)_2$

Tratamiento 1 (cm)	Tratamiento 2 (cm)	Tratamiento 3 (cm)	Control (cm)
30	35	35	41
42	42	30	37
41	38	32	33
39	44	39	43
39	30	31	42
30	30	44	37
36	38	36	37
36	34	35	38
33	30	34	40
34	34	42	37
30	36	39	38
34	30	35	42
33	41	30	45
38	39	43	44
30	30	30	39
32	30	35	38
38	40	37	41
31	36	34	42

Nota: T1= Tratamiento expuesto a 5ppm del metal. T2= tratamiento expuesto a 10ppm del metal. T3= tratamiento expuesto a 15ppm del metal. C= tratamiento de control sin exposición a contaminantes. \pm = Desv. Estándar.

Finalizada la investigación se determina el alto grado de tolerancia de la especie *E. densa* frente a diferentes concentraciones de plomo a nivel de laboratorio, al concluir el periodo de evaluación no se registró cambios ni alteraciones fisiológicos ni mortalidad del material vegetal utilizado, el rango de crecimiento del material expuesto al metal plomo esta entre 4cm y 5cm de longitud.

En el estudio realizado por Harguinteguy, Pignata y Fernandez, (2015), se evalúa la resistencia de *Myriophyllum aquaticum* y *Egeria densa*, al ser expuestas a 10ppm, 15ppm y 20ppm de níquel, plomo y zinc en condiciones controladas de laboratorio, la especie *M.*

aquaticum resultó presentar mayor resistencia que *E. densa*, sin embargo al finalizar el estudio se determina que las dos especies estudiadas no presentaron alteraciones fisiológicas en su composición y mucho menos mortandad, lo cual indica la viabilidad de estas especies en la utilización de procesos de biorremediación de ecosistemas contaminados con metales pesados.

En contraste con la presente investigación Maleva et al. (2018) realizan un estudio de corta duración (48h), evaluando a *E. densa* y *Ceratophyllum demersum*. Sometiéndolos a 10ppm de níquel y 10ppm de cobre, de forma separada y de forma combinada con 2mm de urea, las dos especies demostraron un alto potencial de resistencia y acumulación de los metales pesados, registrando el 35% de acumulación para el metal níquel y 15% de acumulación para el metal cobre. Por lo tanto, las macrófitas acuáticas estudiadas resultaron ser potencialmente buenos agentes fitorremediadores de cuerpos de agua, la adición de una fuente de nitrógeno orgánico en forma de urea en una concentración ambientalmente relevante aumentará la eficiencia de la fitoextracción de metales.

Una vez que se obtuvo el promedio longitudinal para cada tratamiento en función del porcentaje añadido del agente contaminante Pb (NO₃)₂ se obtiene los datos de la desviación estándar (Tabla 11)(Figura 6).

Tabla 11. Determinación de desviación estándar para tratamiento con nitrato de plomo Pb (NO₃)₂

Tratamiento	Repetición	ppm	Long. Inicial (cm)	Long. final (cm)	Desv. estándar
T1	R1	5	30	34.77	3.9
	R2	5	30		
	R3	5	30		
T2	R1	10	30	35.38	4.7
	R2	10	30		
	R3	10	30		
T3	R1	15	30	35.61	4.3
	R2	15	30		
	R3	15	30		
CONT.	C1	0	30	39.66	3.0
	C2	0	30		
	C3	0	30		

Crecimiento *Egeria densa* vs Plomo (Pb)

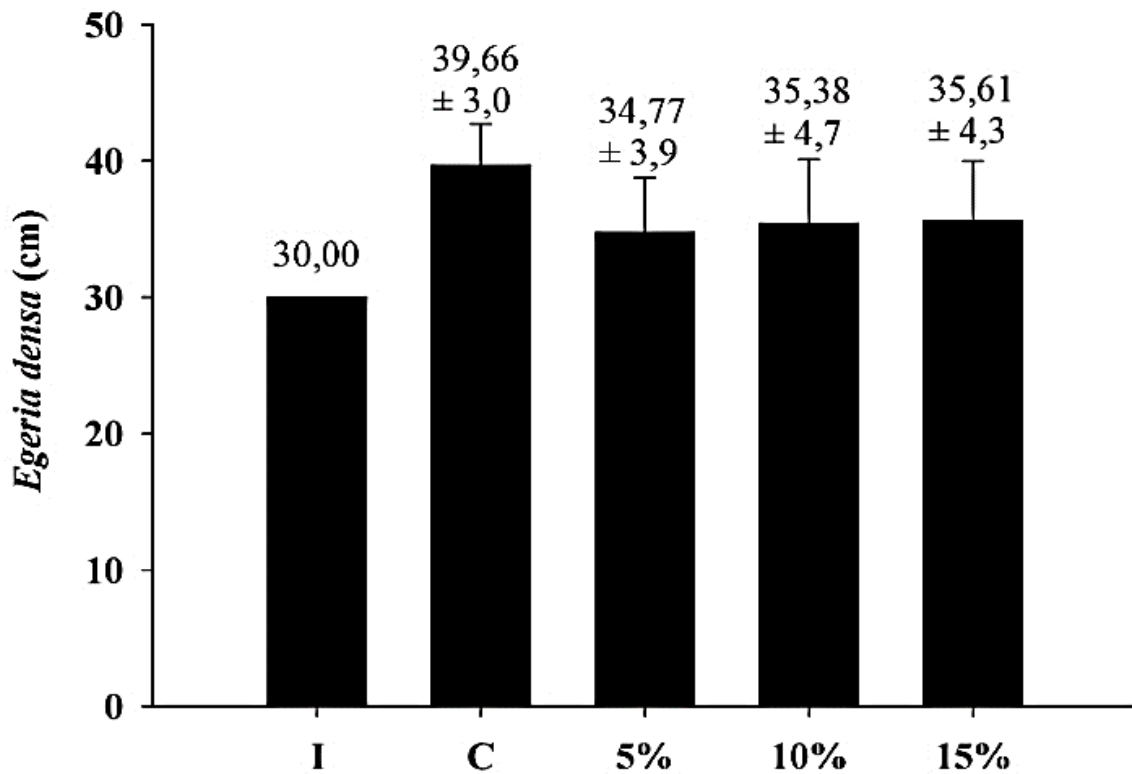


Figura 6. Registro del crecimiento longitudinal de *E.densa* frente a Pb.

Nota: I= Tratamiento inicial, C= tratamiento de control sin exposición a contaminantes, ±= Desv. estandar

El experimento realizado para observar si tres variaciones de ppm de plomo afectan el crecimiento en la longitud del tallo, para lo cual tenemos la siguiente información (Tabla 12).

Factor: Plomo

Tratamiento: Variaciones ppm y tratamiento de control.

Unidad Experimental: *E. densa*.

Variable Respuesta: Longitud del tallo.

Nivel de Significancia: 0.005

Modelo Matemático: $X_{ij} = u + \alpha_j + E_{ij}$

Tabla 12. Análisis de varianza para tratamiento con Pb (NO₃)₂

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0268	3	0.0089	5.3773	0.0022	2.7395
Dentro de los grupos	0.1133	68	0.0016			
Total	0.1402	71				

Ho: No existe diferencia significativa, en la longitud del tallo entre las diferentes variaciones ppm del plomo.

Ha: Si existe diferencia significativa, en la longitud del tallo entre las diferentes variaciones ppm del plomo.

Estadístico de Prueba

$$F_c = \frac{CME}{CMR}$$

Criterio de Decisión

Se rechaza Ho si: $F_c \geq F_{t_{\alpha, v_1, v_2}}$

F_c= 5.37

F_t= 2.73

Se rechaza la Hipótesis Nula, debido a que F_c es mayor a F_t con un nivel de significancia de 5%, por lo que se concluye que, si existe diferencia significativa entre las diferentes variaciones de ppm de sales de cromo, por lo que inciden en la longitud del tallo.

4.2.3 Tolerancia de *E. densa* frente a cadmio

Se realizó un bioensayo utilizando nitrato de cadmio Cd(NO₃)₂, utilizando concentraciones de: 5ppm, 10ppm y 15ppm. Para este metal pesado se registró un crecimiento longitudinal que está en el rango de 31.50cm-40.44cm. El tratamiento con el menor coeficiente de crecimiento

longitudinal fue el expuesto a 15ppm del agente contaminante, registrando un promedio de 31,50cm de longitud, en contraste el tratamiento que sirvió de control fue el de mayor coeficiente de crecimiento longitudinal alcanzando un promedio de 40,44cm de longitud, para los tratamientos que fueron expuestos a 5ppm y 10ppm del metal contaminante se registraron promedios de 32cm,38cm y 32,55cm respectivamente (Tabla 13).

Tabla 13. Registro de longitud (cm) a diferentes porcentajes de nitrato de cadmio Cd(NO₃)₂

T1	T2	T3	C
0.30	0.33	0.30	0.55
0.34	0.30	0.31	0.35
0.33	0.32	0.31	0.36
0.32	0.34	0.33	0.40
0.32	0.33	0.31	0.42
0.30	0.32	0.31	0.37
0.34	0.32	0.33	0.40
0.33	0.31	0.33	0.30
0.33	0.34	0.32	0.36
0.32	0.34	0.31	0.30
0.31	0.31	0.30	0.50
0.32	0.30	0.31	0.48
0.34	0.32	0.31	0.40
0.34	0.34	0.32	0.50
0.31	0.35	0.32	0.38
0.30	0.34	0.31	0.39
0.35	0.31	0.30	0.40
0.33	0.34	0.34	0.42
0.32	0.33	0.32	0.40

Nota: T1= Tratamiento expuesto a 5ppm del metal. T2= tratamiento expuesto a 10ppm del metal. T3= tratamiento expuesto a 15ppm del metal. C= tratamiento de control sin exposición a contaminantes. ±= Desv. Estándar.

E. densa al ser expuestas al metal cadmio presentó una considerable reducción en la tasa de crecimiento longitudinal en comparación con los tratamientos que fueron expuestos al metal plomo a 5ppm, 10ppm y 15ppm, Sin embargo no presentó alteraciones fisiológicas ni mortalidad de los ejemplares.

En el estudio de Zouainia et al. (2016) se evalúa a la especie *Elodea canadensis*. Este estudio examina la toxicidad del cadmio en *E. canadensis*, con el objetivo de estudiar los efectos dañinos de la exposición prolongada al cadmio en hojas de *E canadensis* evaluando durante

7 y 14 días con diferentes concentraciones de cadmio 10ppm, 20ppm, 40ppm, 80ppm, 160ppm. Estos efectos se han estudiado midiendo el crecimiento de las plantas, las actividades fotosintéticas y los efectos del estrés en respuesta a la exposición al cadmio. En este documento de referencia se concluye que el cadmio es tóxico en forma dependiente de la concentración para las macrófitas sumergidas. El proceso fisiológico y bioquímico en las plantas se vio afectado significativamente por el estrés que genera el cadmio. Para hacer frente al estrés oxidativo inducido por cadmio, *Elodea canadensis* adopta estrategias de defensa mediante la activación de algunos biomarcadores de estrés (actividad de GSH y GST) para disminuir los efectos de las especies reactivas de oxígeno.

En la fase de ambientación del material vegetal colectado se utilizó nutrientes aportantes de nitrógeno y fosforo, los mismos que ayudan a las plantas a estar en condiciones óptimas para la evaluación. En el estudio de Pestana et al. (2017) plantea que utilizar fertilizantes aportantes de nitrógeno y fósforo aporta en la capacidad de absorción del metal cadmio que puede lixiviarse en ambientes acuáticos, por ello se somete a *E. densa* a 3ppm y 5ppm de cadmio frente a proporciones de 5, 10 y 100 veces mayor en contenido de nitrógeno y fosforo que del ecosistema de donde se extrajo el material vegetal. Después de realizar análisis de concentraciones de pigmento cloroplastídico se determina que la acumulación de cadmio por *E. densa* se realiza en condiciones donde la disponibilidad de nitrógeno y fosforo es 10 veces mayor al original.

Una vez que se obtuvo el promedio longitudinal para cada tratamiento en función del porcentaje añadido del agente contaminante $Cd(NO_3)_2$ se obtiene los datos de la desviación estándar (Tabla 14)(Figura 7).

Tabla 14. Determinación de desviación estándar para tratamiento con nitrato de cadmio $Cd(NO_3)_2$

Tratamiento	Repetición	ppm	Long. Inicial (cm)	PROM. Long, final (cm)	Desv. estandar
T1	R1	5	30	32.38	1.49
	R2	5	30		
	R3	5	30		
T2	R1	10	30	32.55	1.49
	R2	10	30		
	R3	10	30		
T3	R1	15	30	31.50	1.11
	R2	15	30		
	R3	15	30		
CONT	R1	0	30	40.44	6.51
	R2	0	30		
	R3	0	30		

Crecimiento *Egeria densa* vs Cadmio (Cd)

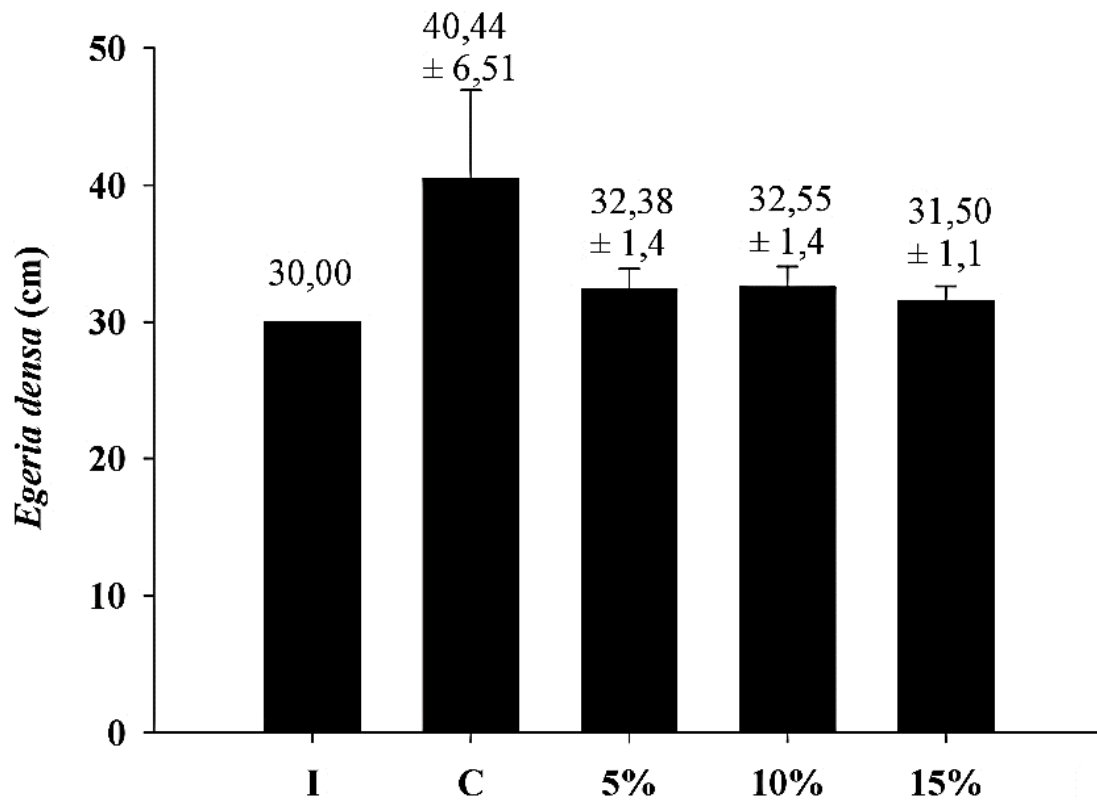


Figura 7. Registro del crecimiento longitudinal de *E. densa* frente a Cd.

Nota: I= Tratamiento inicial, C= tratamiento de control sin exposición a contaminantes, \pm = Desv. estándar.

El experimento realizado para observar si tres variaciones de ppm de cadmio influyen en el crecimiento en la longitud del tallo, para lo cual tenemos la siguiente información (Tabla 15).

Factor: Cadmio.

Tratamiento: Variaciones ppm y tratamiento de control.

Unidad Experimental: *E. densa*.

Variable Respuesta: Longitud del tallo.

Nivel de Significancia: 0.005

Modelo Matemático: $X_{ij} = u + \alpha_j + E_{ij}$

Tabla 15. Análisis de varianza para tratamiento con Cd(NO₃)₂

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0940	3	0.0313	24.5765	6.9545	2.7395
Dentro de los grupos	0.0867	68	0.0012			
Total	0.1808	71				

Ho: No existe diferencia significativa, en la longitud del tallo entre las diferentes variaciones ppm del cadmio.

Ha: Si existe diferencia significativa, en la longitud del tallo entre las diferentes variaciones ppm del cadmio.

Estadístico de Prueba

$$F_c = \frac{CME}{CMR}$$

Criterio de Decisión

Se rechaza Ho si: $F_c \geq F_{t_{\alpha, v_1, v_2}}$

F_c= 24.57

F_t= 2.73

Se rechaza la Hipótesis Nula, ya que F_c es mayor a F_t con un nivel de significancia de 5%, por lo tanto, si existe diferencia significativa entre las diferentes variaciones de ppm de sales de cadmio, es decir que inciden en la longitud del tallo.

4.2.4 Tolerancia de *E. densa* frente a cromo

Para la sal metálica cromato de potasio (K₂CrO₄) se utilizó bioensayos de: 5ppm, 10ppm y 15ppm. En el experimento con concentración de 5ppm de K₂CrO₄, se registró un promedio de

crecimiento de 34.44cm de crecimiento longitudinal, en contraste el tratamiento que sirvió de control registró el mayor coeficiente crecimiento longitudinal llegando al promedio de 37.16cm de longitud, los tratamientos que fueron expuestos a 10ppm y 15ppm del metal pesado registraron un coeficiente de crecimiento longitudinal de 35.88cm y 35.05cm respectivamente (Tabla 16).

Tabla 16. Registro de longitud (cm) a diferentes porcentajes de K₂CrO₄

T1	T2	T3	C
0.45	0.30	0.44	0.31
0.31	0.45	0.30	0.46
0.30	0.30	0.32	0.52
0.45	0.31	0.38	0.47
0.37	0.46	0.30	0.50
0.34	0.44	0.33	0.31
0.30	0.41	0.41	0.31
0.30	0.42	0.32	0.34
0.30	0.41	0.42	0.46
0.31	0.30	0.32	0.34
0.42	0.41	0.35	0.35
0.30	0.30	0.41	0.32
0.40	0.30	0.32	0.31
0.34	0.31	0.32	0.36
0.30	0.34	0.32	0.33
0.32	0.34	0.36	0.33
0.38	0.31	0.34	0.31
0.31	0.35	0.35	0.36

Nota: T1= Tratamiento expuesto a 5ppm del metal. T2= tratamiento expuesto a 10ppm del metal. T3= tratamiento expuesto a 15ppm del metal. C= tratamiento de control sin exposición a contaminantes. ±= Desv. Estándar.

Para el metal cromo se registró un rango de crecimiento de 4cm y 5cm en los tratamientos expuestos a 5ppm, 10ppm y 15ppm, para este metal la capacidad de tolerancia fue similar a los evaluados con los metales plomo y cadmio, no se registró cambios fisiológicos ni mortalidad del material vegetal evaluado.

La versatilidad de la especie *E. densa* en procesos de fitorremediación frente a metales pesados a nivel de laboratorio es muy alta, Jaramillo, Zapata y Marulanda (2015) evalúan muestras de *Egeria sp.* de entre 35cm y 36cm, sometiéndolos a concentraciones de 0.39ppm, 1.55ppm y

6.25ppm, obteniendo un gran desempeño, llegando a remover inclusive hasta el 100% del metal en los ensayos sometidos a 1.55ppm, sin presentar marchitez ni mortandad en las especies.

Se ha demostrado la gran capacidad de resistencia de *E. densa* frente a diferentes concentraciones de metales pesados, tal es el caso de la investigación de Abu et al (2013) donde se evalúa tres especies macrófitas (*Cabomba piauhyensis*, *Egeria densa*, *Hydrilla verticillata*) durante un periodo de 14 días en condiciones hidropónicas, siendo sometidas a residuos mineros con contenido de zinc, arsénico y aluminio. Los resultados muestran que *E. verticillata* y *E. densa* son capaces de acumular 95.2% de arsénico y 93.7% de zinc, mientras que *C. piauhyensis* demostró mejor desempeño con el aluminio, acumulando 83.3%. La capacidad de estas plantas para acumular los metales estudiados y sobrevivir a lo largo del experimento demuestra el potencial de estas especies para remediar aguas contaminadas con metales pesados especialmente para efluentes de drenaje de minas.

Una vez que se obtuvo el promedio longitudinal para cada tratamiento en función del porcentaje añadido del agente contaminante K_2CrO_4 se obtiene los datos de la desviación estándar (Tabla 17)(Figura 8).

Tabla 17. Determinación de desviación estándar para tratamiento con cromato de potasio K_2CrO_4

Tratamientos	Repeticiones	ppm	Long inicial (cm)	Promedio Long. Final (cm)	Desv. estándar
T1	R1	5	30	34.44	5.37
	R2	5	30		
	R3	5	30		
T2	R1	10	30	35.88	6.03
	R2	10	30		
	R3	10	30		
T3	R1	15	30	35.05	4.34
	R2	15	30		
	R3	15	30		
CONTROL	R1	0	30	37.16	7.34
	R2	0	30		
	R3	0	30		

Crecimiento *Egeria densa* vs Cromo (Cr)

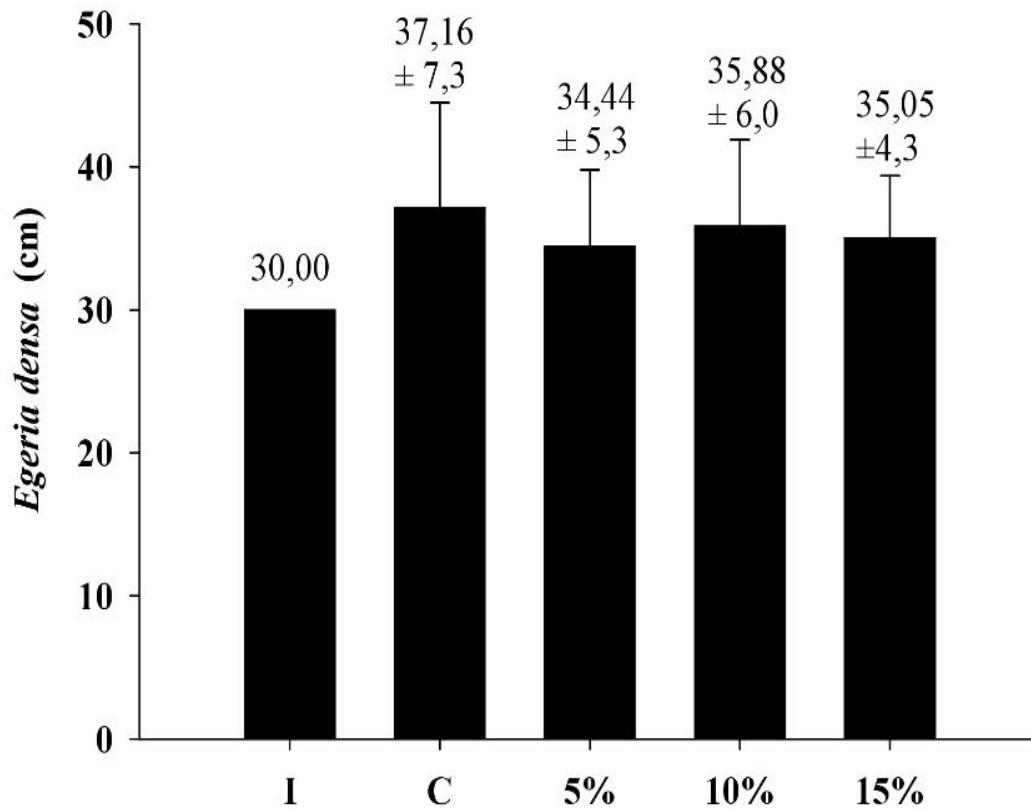


Figura 8. Registro del crecimiento longitudinal de *E.densa* frente a Cr.

Nota: I= Tratamiento inicial, C= tratamiento de control sin exposición a contaminantes, ±= Desv. estándar

El experimento realizado para observar si tres variaciones de ppm de cromo afectan el crecimiento en la longitud del tallo, para lo cual tenemos la siguiente información (Tabla 18).

Factor: Cromo

Tratamiento: Variaciones ppm y tratamiento de control.

Unidad Experimental: *E. densa*.

Variable Respuesta: Longitud del tallo.

Nivel de Significancia: 0.005

Modelo Matemático: $X_{ij} = u + \alpha_j + E_{ij}$

Tabla 18. Análisis de varianza para tratamiento con K_2CrO_4

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0074	3	0.0024	0.7235	0.5413	2.7395
Dentro de los grupos	0.2347	68	0.0034			
Total	0.2422	71				

Ho: No existe diferencia significativa, en la longitud del tallo entre las diferentes variaciones de ppm del cromo.

Ha: Si existe diferencia significativa, en la longitud del tallo entre las diferentes variaciones ppm del cromo.

Estadístico de Prueba

$$F_c = \frac{CME}{CMR}$$

Criterio de Decisión

Se rechaza Ho si: $F_c \geq F_{t_{\alpha, v_1, v_2}}$

$F_c=0.72$

$F_t= 2.73$

Se acepta la Hipótesis Nula, debido a que F_c es menor a F_t con un nivel de significancia de 5%, por lo que se concluye que no hay diferencia significativa entre las diferentes variaciones de ppm de sales de cromo y no inciden en la longitud del tallo.

4.3 Diseño de guía sobre la aplicabilidad de fitorremediación con *E. densa* para cromo, plomo y cadmio

La fitorremediación aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo, aire, agua o sedimentos como: metales pesados, metales radioactivos, compuestos orgánicos y compuestos derivados del petróleo.

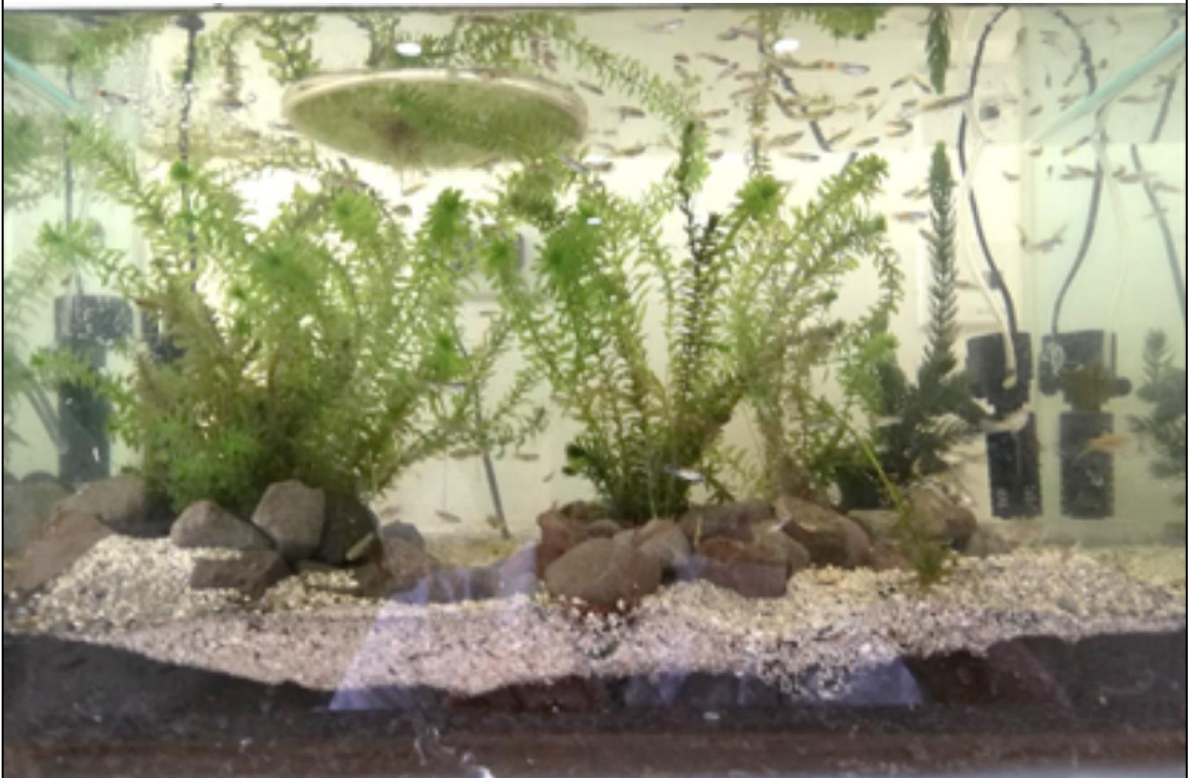
En el presente protocolo de aplicabilidad se plasman los procedimientos específicos que se debe realizar para replicar el mismo estudio por las personas interesadas en profundizar este tipo de investigaciones, los datos que se plasman en la guía de aplicabilidad son: tipo de investigación, recopilación de datos, análisis de datos, herramientas y materiales utilizados. Para poder realizar una guía realmente útil se debe tomar en cuenta, particularidades, requerimientos y demás aspectos de las especies a evaluar al momento de realizar los ensayos de laboratorio, caso contrario se puede estar difundiendo información no verídica al público.

Se puede aseverar a las guías de aplicabilidad de acción como un conjunto de pasos y normas que debemos ejecutar cuando existen ciertas situaciones, ya sean circunstancias de crisis o simplemente rutinas productivas basadas en dicho protocolo. La importancia de la actualización de las guías de aplicación en todos los campos posibles es de gran importancia, siempre tomando en cuenta la voz de los expertos y la evidencia científica para fortalecer las estrategias de colaboración y avance de las mismas. Así, podemos entender el protocolo de acción como un conjunto de pasos y normas que debemos ejecutar cuando existen ciertas situaciones, ya sean circunstancias de crisis o simplemente rutinas productivas basadas en el protocolo.



Octubre 2021

GUÍA SOBRE LA APLICABILIDAD DE FITORREMEDIACIÓN CON *Egeria densa* PARA CROMO, PLOMO Y CADMIO.



AUTOR

TITUAÑA MALDONADO MALQUI DAVID

REVISORES:

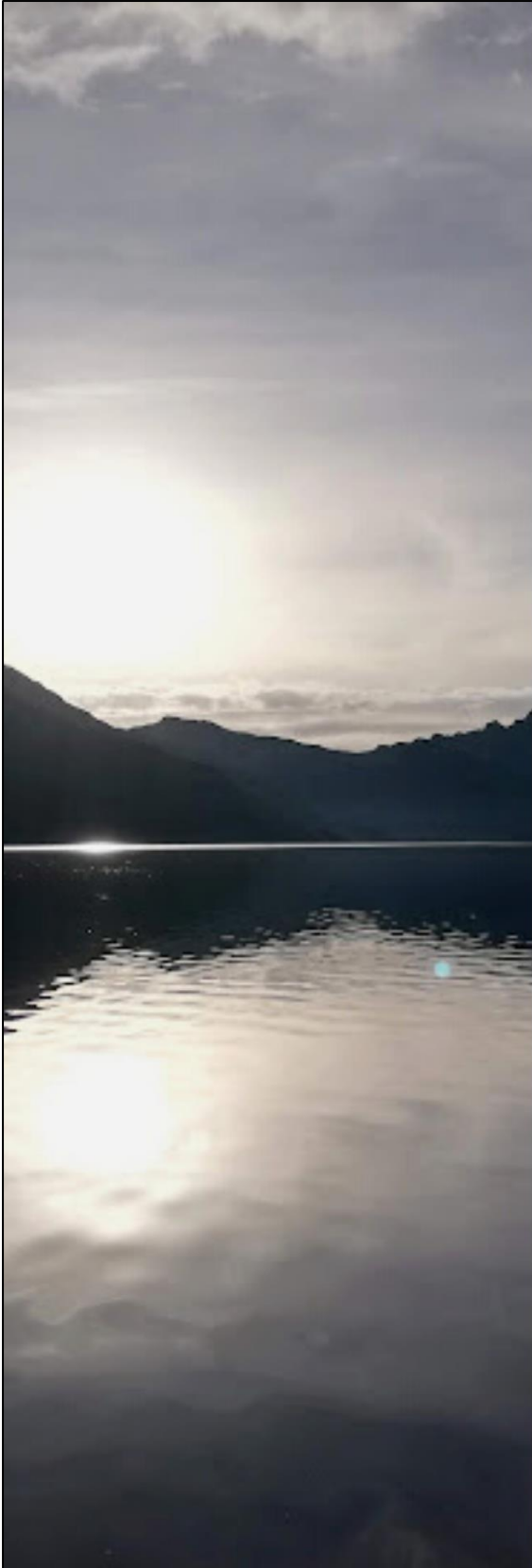
Ing. ELIZABETH VELARDE MSc

Ing. SANTIAGO CABRERA MSc

Ing. SANTIAGO ZARATE MSc

Ibarra - Ecuador

2021



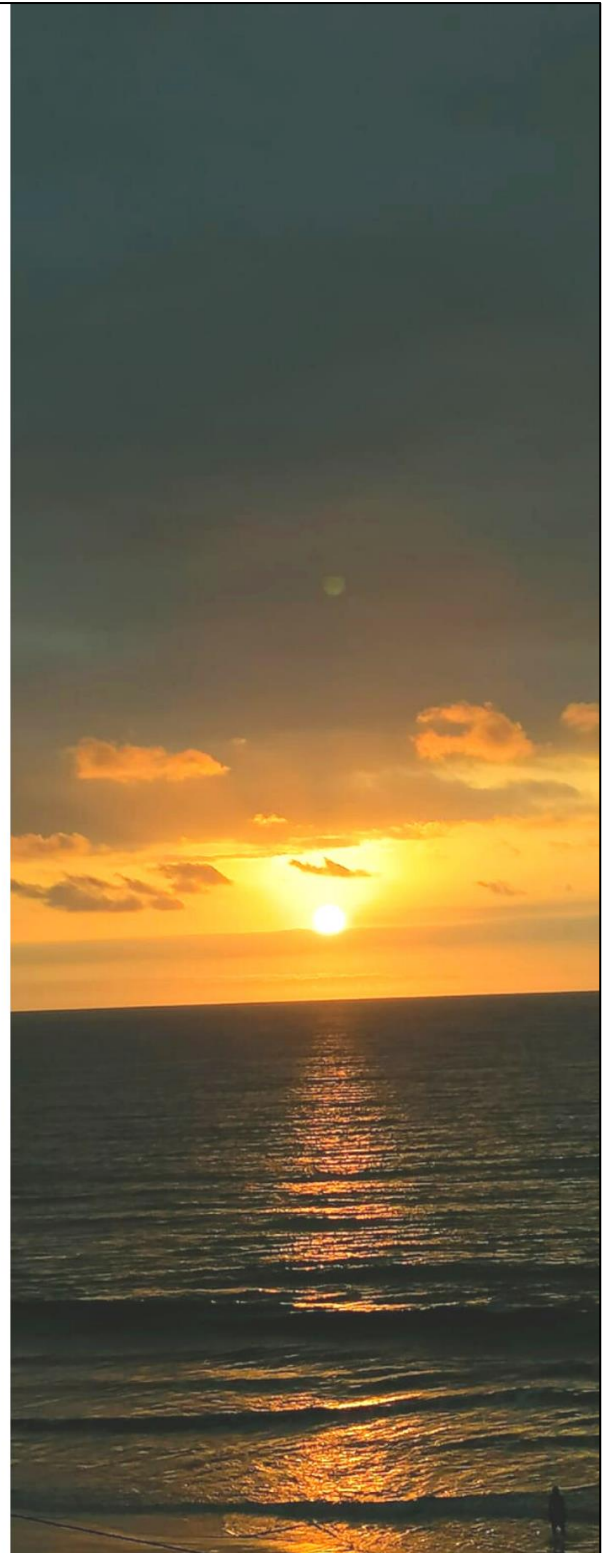
ÍNDICE

PORTADA.....	1
ÍNDICE.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
IMPORTANCIA.....	4
TAXONOMÍA.....	4
MATERIALES Y REACTIVOS.....	5
FLUJOGRAMA.....	6
NORMAS DE SEGURIDAD.....	6
FASE DE CAMPO.....	7
FASE DE LABORATORIO.....	8
RESULTADOS	12
REFERENCIAS.....	13

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la problemática de la contaminación de los ecosistemas ha afectado gravemente a ellas, puede afectar principalmente a los recursos hídricos, los principales elementos contaminantes desde un punto de vista global son: materia orgánica, organismos patógenos presentes en aguas residuales, pesticidas y fertilizantes utilizados en las actividades agrícolas y metales pesados generalmente producto de procesos mineros e industriales. Según el informe de la ONU la contaminación de cuerpos de agua es uno de los principales problemas a nivel mundial, tanto en ecosistemas acuáticos continentales como en marítimos.

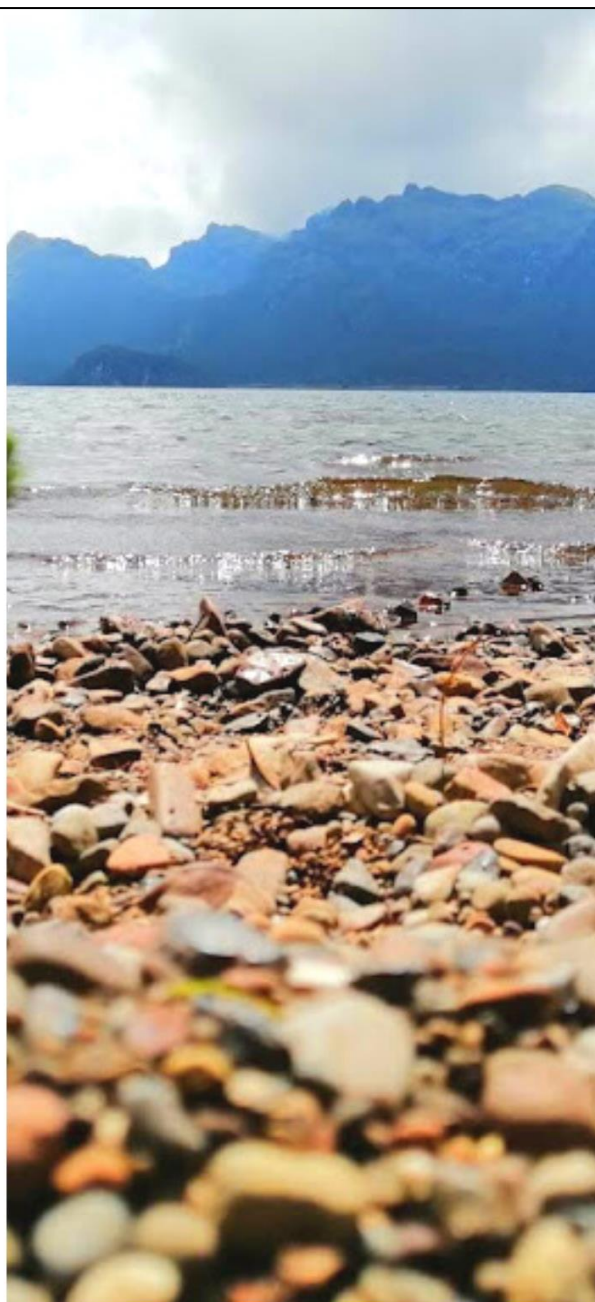
Las malas prácticas ambientales de pobladores y la deficiente o inexistente normativa legal es el puntal más crítico que deriva en la contaminación de ecosistemas acuáticos. Por procesos geológicos y de régimen hídrico los contaminantes terminan depositados en los sistemas lacustres, principalmente por acción de la escorrentía, de este modo es nuestro deber como academia insistir en que se realice las acciones necesarias para reducir este tipo de contaminación en la fuente.



IMPORTANCIA

IMPORTANCIA DE LA FITOREMEDIACIÓN CON ESPECIES MACROFITAS.

La importancia de este tipo de remediación radica en el balance costo beneficio que brinda esta metodología, la fitorremediación se ha convertido en una tecnología sostenible y rentable que utiliza plantas a fin de minimizar el potencial de peligro de contaminación en cuerpos de agua, aire y tierra (Mallick, 2003; De Olivera, 2004; Audet y Charest, 2007). Existen algunas variantes de esta tecnología aplicable a sistemas contaminados con metales pesados como: fitoextracción, fitoatransformación, fitoestabilización y rizofiltración, fitovolatilización. Estas variantes se pueden realizar a nivel de laboratorio para posteriormente proponer estrategias de fitorrestauración que no es otra cosa más que la repoblación de flora especializada en la áreas degradadas, principalmente con especies de rápido crecimiento (Robinson et al., 2006; Jing, He y Yang, 2007).



No	Proceso	Mecanismo	Contaminante
1	Rizofiltración	Acumulación en raíces	Orgánico e inorgánico
2	Fitoestabilización	Complejación	Inorgánico
3	Fitoextracción	Hiperacumulación	Inorgánico
4	Fitovolatilización	Volatilización por hojas	Orgánico e inorgánico
5	Fitotransformación	Degradación en la planta	Orgánico

Reino:	Plantae
Phylum:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Alismatales
Familia:	Hydricharitacea
Género:	Egeria
Especie:	<i>Egeria densa</i>
Nombre común:	Elodea

GÉNERO EGERIA.

Planta herbácea acuática, sumergida excepto las flores. Presenta tallos de hasta 2m de largo, con hojas lanceoladas de 1-4 cm de largo por 2-5 mm de ancho. Sus flores blancas tienen tres pétalos que se disponen al final de un largo pedúnculo y flotan en el agua. Se reproduce principalmente de forma vegetativa, pues los fragmentos de los tallos se transportan y enraízan fácilmente (Alarcón-Elbal, 2013).

AMBITO DE APLICACIÓN

La presente investigación está dirigida a profesionales, estudiantes y público en general interesado/a en la aplicación de técnicas de biorremediación de aguas contaminadas por metales pesados.

MATERIALES Y EQUIPOS:

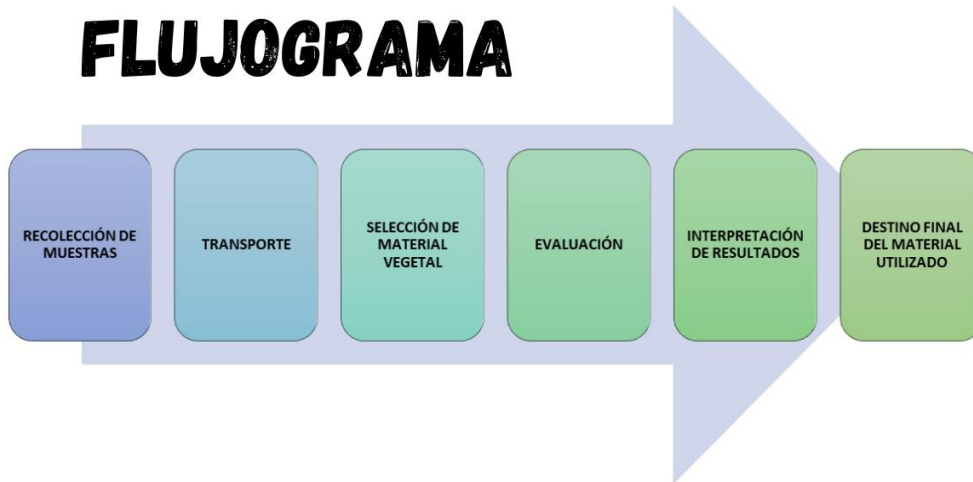
- Bote
- Cubetas
- Traje de neopreno
- Pipetas de vidrio
- Cinta métrica
- Agitadores
- Tubos falcon 50ml
- Recipientes de vidrio 5000ml
- Tijera
- Pinzas
- Estufa
- GPS
- Material vegetal
- Bandejas de aluminio

REACTIVOS:

- Nitrato de plomo Pb (NO₃)₂
- Nitrato de cadmio Cd (NO₃)₂
- Cromato de potasio K₂CrO₄
- Agua destilada
- Ácido nítrico

Nota: En el presente documento se presenta la metodología, datos obtenidos y condicionantes con las cuales se desarrolló la investigación, se espera que sirva de guía para futuras investigaciones similares, acondicionándolo a su necesidades

FLUJOGRAMA



NORMAS DE SEGURIDAD

Las medidas de Seguridad en Laboratorios son un conjunto de medidas preventivas destinadas a proteger la salud de los que allí se desempeñan frente a los riesgos propios derivados de la actividad, para evitar accidentes y contaminaciones tanto dentro de su ámbito de trabajo, como hacia el exterior.

Conocer la ubicación de elementos de seguridad dentro del laboratorio, extintor, botiquín, lavabo, etc.

No: comer, beber, fumar o maquillarse.

No guardar alimentos en el laboratorio

Usar vestimenta apropiada, cabello recogido, evitar el uso de colgantes

Usar guantes para evitar el contacto con sustancias químicas o biológicas

Etiquetar correctamente todo

En caso de existir gases o vapores, usar respiradores (N95 o N100)



FASE DE CAMPO



OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

- La extracción del material vegetal se debe realizar de acuerdo a la disponibilidad de la misma, puede ser extraída de un medio natural o a la vez puede ser adquirida en algún acuario.

Cuando las muestras vegetales son tomadas de un medio natural, se las puede extraer cuidadosamente con las manos o con algún artefacto si las condiciones lo ameritan, de acuerdo a lo que refiere el texto Standard Methods.

TRANSPORTE DEL MATERIAL VEGETAL

Las muestras colectadas deben ser colocadas en cubetas que contengan agua del mismo medio de donde fueron extraídas, y transportarlas al lugar destinado a los experimentos.

Una vez que el material vegetal se encuentre en el lugar de destino, se deben lavar cuidadosamente con agua destilada, a fin de depurar las impurezas que podrían inferir en los análisis posteriores.



FASE DE LABORATORIO



AMBIENTACIÓN

El material vegetal colectado se coloca en frascos de aproximadamente 4cm de diametro y 10cm de alto que contiene arena para mayor fijación, posteriormente se los coloca en recipientes con agua de llave sin cloro (dejar reposar por 48 horas) y añadir nutrientes para garantizar su supervivencia, en el presente estudio se añadió 5.8ml de KNO_3 y 5.3ml $\text{Ca}(\text{NO})_2$ con la finalidad de satisfacer las demandas internas de las muestras vegetales hasta su uso en las evaluaciones frente a los metales pesados.

En este tipo de cultivos todos los elementos esenciales se suministran a las plantas disolviendo las sales fertilizantes en agua para preparar la solución de nutrientes. La elección de las sales que deberán ser usadas depende de un elevado número de factores. La proporción relativa de iones que debemos añadir a la composición se comparará con la necesaria en la formulación del nutriente; por ejemplo, una molécula de nitrato potásico KNO_3 proporcionará un ión de potasio K^+ y otro ión de nitrato NO_3^- , así como una molécula de nitrato calcico $\text{Ca}(\text{NO})_2$ nos aporta un ión cálcico Ca^{++} y dos iones de nitrato.

De acuerdo a Shengqui et al. (2012) las condiciones mas favorables para realizar este proceso son las siguientes:

Temperatura ambiental → 25°C.

Exposición a luz → 12 horas de luz.

intensidad lumínica → 6.500lx

SELECCIÓN DE MATERIAL VEGETAL

Las macrófitas deben ser cuidadosamente seleccionadas, verificando que se encuentren en buen estado fitosanitario y procurando uniformidad en el tamaño, posterior a esto se debe tomar la cantidad idónea para el volumen y armar bonches para la respectiva evaluación.



En este caso de estudio se utilizó tallos de 30cm de longitud, si el caso lo amerita se puede recortar para obtener tallos del tamaño deseado.

Se colocó 6 tallos de E. densa en cada frasco, compactado en la base con arena y sellados con parafilm. con la finalidad de fijar al máximo las muestras en el fondo del frasco de vidrio.

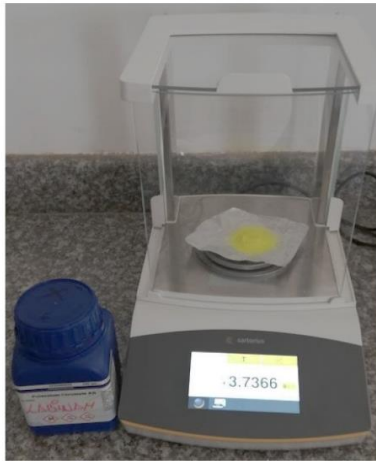


BIOENSAYOS

Dependiendo del diseño experimental se debe colocar la cantidad de reactores experimentales, con las diferentes concentraciones de metales pesados y el material vegetal, evaluar periódicamente los valores de ph y temperatura, además se debe mantener una constante agitación a fin de evitar que las sales metálicas precipiten.

Para la presente investigación se utilizó 12 de cilíndricos de vidrio de 5lt de capacidad, se utilizó 3 envases de vidrio para cada concentración metálica (5ppm, 10ppm y 15ppm) adicional se colocó 3 envases sin ninguna concentración metálica que sirvieron como controles.

Los valores de ph y temperatura se registró diariamente utilizando el equipo multiparametro YSI.



CONCENTRACIONES METÁLICAS

Se realizó diluciones madre a fin de obtener una concentración neta de 1000ppm de (Pb, Cr y Cd), posteriormente serán añadidas a cada bioreactor, para determinar el peso de la sal metálica a diluir en 1000ml de agua destilada, la ecuación se la realiza a través de una regla de tres simple y está determinada por los siguientes datos: masa molecular de la sal metálica, masa atómica del elemento metálico y volumen.

A continuación las ecuaciones:

$$\frac{\text{masa molecular de sal metálica}}{x} * \frac{\text{masa atómica de metal}}{\text{Volumen}}$$

Despejando la fórmula:

$$x = \frac{\text{masa molecular de sal metálica} * \text{Volumen}}{\text{masa atómica de metal}}$$

Fórmula para K_2CrO_4 :

$$x = \frac{194,19\text{g/mol} * 1\text{l}}{52\text{g/mol}} = 3,73\text{g/l}$$

Fórmula para $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$:

$$x = \frac{331,2\text{g/mol} * 1\text{l}}{2017,2\text{g/mol}} = 1,597\text{g/l}$$

Fórmula para $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$:

$$x = \frac{236,42\text{g/mol} * 1\text{l}}{112,41\text{g/mol}} = 2,1\text{g/l}$$

Para la determinación del volumen necesario de la solución madre a añadir en cada bioreactor se realizó la siguiente ecuación:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

Donde:

C1: ppm de solución madre (1000mg/l)

C2: ppm deseado (5,10 y 15mg/l)

V1: x

V2: Volumen de solución receptor (5000ml)

Despejando la fórmula:
$$V1 = \frac{C2 * V2}{C1}$$

Debido a que las soluciones madres para cada metal se encuentran a 1000mg/l, el volumen a añadir será el mismo para las tres soluciones madre, así:

Para añadir 5ppm:

$$V1 = \frac{5mg/l * 5000ml}{1000mg/l} = 25ml$$

Para añadir 10ppm:

$$V1 = \frac{10mg/l * 5000ml}{1000mg/l} = 50ml$$

Para añadir 15ppm:

$$V1 = \frac{15mg/l * 5000ml}{1000mg/l} = 75ml$$

OBTENCIÓN DE RESULTADOS



Para la determinación de la tasa de crecimiento y supervivencia, se debe contar, medir y registrar cada tallo, con las longitudes registradas se realiza la aplicación estadística idónea para determinar si las concentraciones de metales pesados influyen significativamente en el crecimiento de las plantas evaluadas o no influyen, para el presente trabajo se determinó la tasa de crecimiento con la aplicación estadística ANOVA de dos colas para cada metal.

A continuación se muestra la tabla resumen del promedio longitudinal registrado para cada concentración metálica.

Concentración / Metales	5ppm	10ppm	15ppm	Control	Unidad de medida
Plomo	34.77	35.38	35.61	39.66	cm
Cromo	34.44	35.88	35.05	37.16	cm
Cadmio	32.28	32.55	31.50	40.44	cm

Una vez realizado la aplicación estadística ANOVA se determina que las sales metálicas de plomo y cadmio representan una diferencia significativa, es decir que si influyen en el crecimiento longitudinal de los tallos, para la sal metálica de cromo no existe diferencia significativa, por lo tanto no influye en el crecimiento longitudinal.

DESTINO FINAL DE LOS RESIDUOS

No descargar los líquidos ni material vegetal residual directamente al desagüe ni al basurero. Lo más recomendable es almacenar en contenedores y enviarlos con un gestor ambiental certificado o en su defecto comunicarse con la autoridad ambiental, para que ellos realicen una gestión final adecuada de estos desechos.

REFERENCIAS

- Alarcón, E. (2013). Plantas invasoras acuáticas y culícidos: un binomio peligroso. Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural Sección Biología 107, 5-15.
- APHA., AWWA. y WEF (1999). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington D.C., United States of America: American Public Health Association.
- Audet, P. y Charest, C. (2007). Heavy metal phytoremediation from a metal-analytical perspective. Environmental Pollution, 147, 231-237.
- De Olivera, L. (2004). Heavy metal biosorption by chitin and chitosin isolated from *Cunninghamella elegans*. Brazilian Journal of Microbiology, 35, 243-247.
- Jing Y., He, Z. y Yang, X. (2007). Role rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. Journal of Zhejiang University Science B, 8, 192-207.
- Mallick, N. (2003). Biotechnological potential of *Chlorella vulgaris* for accumulation of Co and Ni from single and metal solution. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 19, 695-701.
- Robinson, B., Schulin, R., Nowack, B., Roulier, S., Menon, M., Clothier, B., Green, S. y Mills, T. (2006). Phytoremediation for the management of metal flux in contaminated site. Snow Landscape Research, 80, 221-234.
- Shengqui, S., Yiming, Z., Jian, Q., Wei, W., Weizhi, Y., Liang, S. (2012). Physiological responses of *Egeria densa* to high ammonium concentration. Chemosphere, 86, 538- 545.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

La presencia de metales pesados en el agua, tanto de la cubeta lacustre como de sus afluentes es evidente, los metales: plomo, cromo y cadmio se encuentran en las siguientes concentraciones. Para el metal Pb los valores van desde $<0,0005\text{mg/l}$ hasta $<0,001\text{mg/l}$, para el metal Cr los valores van desde $<0,0002\text{mg/l}$ hasta $<0,0012\text{mg/l}$, Para el metal Cd los valores van desde $<0,0001\text{mg/l}$ hasta $<0,0002\text{mg/l}$. La cantidad de metales pesados registrados no sobrepasan los límites permisibles vigentes en nuestro país, pero por la dinámica propia del lago Yahuarcocha hace que sea preocupante el estado eutrófico de la misma. Las cargas metálicas presentes en el lago están estrechamente relacionadas a la gran cercanía con el asentamiento humano circundante y sus actividades de subsistencia y el deficiente sistema de depuración de afluentes.

Los análisis de las concentraciones de los metales pesados presentes en las muestras de sedimento de la microcuenca del lago Yahuarcocha arrojan resultados considerablemente elevados. Para el metal Pb los valores están en el rango de $5,8\text{mg/kg}$ hasta $6,8\text{mg/kg}$, para el metal Cr los valores están en el rango de 17mg/kg hasta 25mg/kg , para el metal Cd los valores están en el rango de $<0,1\text{mg/kg}$ hasta $0,2\text{mg/kg}$, en este caso las concentraciones de metales pesados no sobrepasan los límites permisibles de la norma de referencia sin embargo una de las principales características de los metales pesados es la capacidad de acumulación, por lo tanto, si la dinámica actual continua, no tardará mucho en que las concentraciones alcancen o sobrepasen los límites permisibles.

En los experimentos realizados utilizando como medio fitorremediador a la especie *E. densa* en el laboratorio LABINAM en función de las pruebas estadísticas obtenidas se concluye que *E. densa* en una especie vegetal muy resistente y capaz de desarrollarse en medios acuáticos contaminados con altos porcentajes de carga metálica, en el caso de este experimento se evaluó frente a 5,10 y 15ppm de metales pesados, en el mismo sentido se evidenció que al cabo de la experimentación las muestras vegetales no presentaron signos de marchitamiento o mortandad.

Se realizó una guía de aplicabilidad para fitorremediación con la especie *E. densa* la misma que resulta ser de mucha importancia para fines investigativos, especialmente para la comunidad científica interesada en realizar procedimientos afines, debido a la escasa información de investigaciones con esta especie vegetal, trabajos de este tipo resultan ser de mucha utilidad.

5.2 Recomendaciones

En vista de la estrecha interacción entre la población y el lago Yahuarcocha se hace urgente la intervención de instituciones públicas o privadas de salud a fin de prevenir, tratar o descartar enfermedades vinculadas a la ingesta o contacto con metales pesados y demás contaminantes presentes en el sistema lacustre.

Dada la importancia de los ecosistemas lacustres a nivel mundial y de sobremanera en la provincia de Imbabura se recomienda replicar estudios similares al presente, evaluando diferentes especies macrofíticas, con la finalidad de encontrar especies más eficientes en remoción de metales pesados de ecosistemas acuáticos.

Debido a la inexistencia de un sustento legal para límites máximos permisibles de metales presentes en sedimentos, se hace importante la creación de una normativa que permita regular contaminantes presentes en sedimentos, debidamente acondicionada a la realidad de nuestro país.

Para la toma de muestras se recomienda realizarlo al menos en dos épocas climáticas diferentes, puesto que la condición meteorológica puede inferir en las cargas metálicas presentes en la columna de agua, así como en el sedimento.

REFERENCIAS

- Adriano, D.C. (1986). *Trace elements in the terrestrial environment*. New York United States of America: Springer Verlag.
- Adriano, D. C., Wenzel, W., Vangronsveld, J. y Bolan, N. S. (2004). Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma*, 122, 121-142.
- Abdel, A. y Goher, M. (2015). Heavy metals fractionation and risk assessment in surface sediments of Qarun and Wadi El-Rayan Lakes, Egypt. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187- 346.
- Abu, A., Yusoff, I., Fatt, N., Othman, F. y Ashraf, M. (2013). Arsenic, Zinc, and Aluminium Removal from Gold Mine Wastewater Effluents and Accumulation by Submerged Aquatic Plants (*Cabomba piauhyensis*, *Egeria densa*, and *Hydrilla verticillata*). BioMed Research International, 2013.
- Alba, P. (2010). *La educación ambiental y su importancia en la protección de la laguna de Yahuarcocha* (Tesis de Maestría). Universidad Tecnológica Equinoccial, Ecuador.
- Alarcón, E. (2013). Plantas invasoras acuáticas y culícidos: un binomio peligroso. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural Sección Biología* 107, 5-15.
- APHA., AWWA. y WEF (1999). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Washington D.C., United States of America: American Public Health Association.
- Audet, P. y Charest, C. (2007). Heavy metal phytoremediation from a metal-analytical perspective. *Environmental Pollution*, 147, 231-237.
- Blomme, J. (2014). General limnology and zooplankton ecology of two tropical high-altitude Department Biology, KU Leuven (campus Kortrijk), Ibarra.
- Brooks, R. (1998). *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. Wallingford, UK: CAB International.
- Burger, M y Román, D. (2010). Plomo Salu y Ambiente Experiencia en Uruguay. OMS
- Buta, E., Torok, A., Csog, Á., Zongo, B., Cantor, M., Buta, M. y Majdik, C. (2014). Comparative Studies of the Phytoextraction Capacity of five Aquatic Plants in Heavy Metal Contaminated Water. *Not Bot Horti Agrobi*, 42(1), 173- 179.

- Cabrera, S. (2015). *Análisis temporal y espacial de comunidades zooplanctónicas en los lagos andinos: Yahuarcocha y Mojanda, Ecuador* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Caicedo, F. (2016). *Evaluación de la dinámica poblacional del fitoplancton con relación a las características físico-químicas del lago altoandino yahuarcocha* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Chen, Y., Hu, W., Huang, B., Weindorf, D.C., Rajan, N., Liu, X. y Niederman, S. (2013). Accumulation and health risk of heavy metals in vegetables from harmless and organic vegetable production systems of China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 324-330.
- Cherian, S. y Oliveira, M. (2005). Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental Science & Technology*, 39, 9377-9390.
- Cifuentes, F. (2016). *Evaluación del contenido de materia orgánica en los sedimentos del lago yahuarcocha y propuesta de recuperación ecológica* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- De Olivera, L. (2004). Heavy metal biosorption by chitin and chitosin isolated from *Cunninghamella elegans*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35, 243-247.
- Dumont, H, Green, J. y Masundire, H. (1994). *Studies on the Ecology of Tropical Zooplankton*. Dordrecht, Holanda: Kluwer.
- Escaleras, H. (2016). *Determinación de la calidad de agua utilizando como bioindicadores macroinvertebrados bentónicos en el lago de yahuarcocha, provincia de Imbabura* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Estrada Paneque, A., Gallo González , M. & Nuñez Arroyo, E. (2016). Contaminación ambiental, su influencia en el ser humano, en especial: el sistema reproductor femenino. *Universidad y Sociedad*, 8 (3). pp. 80 - 86
- Fazio, F., Piccione, G., Tribulato, K., Ferrantelli, V., Giangrosso, G., Arfuso, F. y faggio, C. (2014). Bioaccumulation of Heavy Metals in Blood and Tissue of Striped Mullet in Two Italian Lakes. *Journal of Aquatic Animal Health*, 26(4),278-284.
- Farina, O., Pisapia, D., Gonzales, M. y Lasso, C. (2013). Evaluación de la Contaminación por mercurio en la biota acuática, aguas y sedimentos de la Cuenca Alta del río Cuyuní,

Estado Bolívar, Venezuela. Evaluación Rápida de la Biodiversidad de los Ecosistemas Acuáticos de la Cuenca Alta del Río Cuyuní, Guayana Venezolana, 74-88

García, M.E., Bundschuh, J., Ramos, O., Quintanilla, J., Person, K.M., Bengtsson, L. y Berndtsson, R. (2005). Heavy metals in aquatic plants and their relationship to concentrations in surface water, groundwater and sediments a case study of Poopó, Bolivia. *Revista Boliviana de química*, 22, 8-18.

García-Serna, J., Pérez-Barrigón, L. y Cocero, M.J. (2007). New trends for design towards sustainability in chemical engineering: Green engineering. *Chemical Engineering Journal*. 133, 7-30.

Garzón, J.M., Rodríguez-Miranda, J.P. y Hernández-Gómez, C. (2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Revista Universitaria de Salud*, 19(2), 309-318.

Greenfacts. (2006). *Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos hídricos II*.

Habib, M., Islam, A., Bodrud-Doza, M., Mukta, F., Khan, R., Bakar, M., Phoungthong, K., Techato, K. (2019). Simultaneous appraisals of pathway and probable health risk associated with trace metals contamination in groundwater from Barapukuria coal basin, Bangladesh, *Chemosphere*, 2019, 1-42.

Harguinteguy, C., Pignata, L. y Fernandez-Cirelli, A. (2015). Nickel, lead and zinc accumulation and performance in relation to their use in phytoremediation of macrophytes *Myriophyllum aquaticum* and *Egeria densa*. *Ecological Engineering*. 82, 512-516.

Henriksen, A. y Wright, R. (1978). Concentrations of heavy metals in small norwegian lakes. *Water Research*, 12, 101-112.

Jaramillo, M., Zapata, L. y Marulanda, T. (2015). Fitorremediación de mercurio a partir de *Egeria densa* sp. *Revista Ingenierías USBMed*, 6(2), 42-45

Jeppesen, E., Søndergaard, M., Mazzeo, N., Meerhoff, M., Branco, C., Huszar, V. and Scasso, F. (2005). Lake restoration and biomanipulation in temperate lakes: relevance for subtropical and tropical lakes. En M.V. REDDY (Ed). *Tropical eutrophic lakes* (pp. 341-360). Enfield, Londres: Science Publisher Inc.

- Jing Y., He, Z. y Yang, X. (2007). Role rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Journal of Zhejiang University Science B*, 8, 192-207.
- Kähkönen, M. y Manninen, P. (1997). The uptake of nickel and chromium from water by *Egeria densa* at different nickel and chromium exposure levels. *Chemosphere*, 36(6), 1381-1390.
- LU, C. y Cheng, J. (2011). Speciation of Heavy Metals in the Sediments from Different Eutrophic Lakes of China. *Procedia Engineering*, 18, 318-323.
- Maleva, M., Borisova, G., Chukina, N. y Kumar, A. (2018). Urea increased nickel and copper accumulation in the leaves of *Egeria densa* (Planch.) Casp. and *Ceratophyllum demersum* L. during short-term exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 148, 152 – 159.
- Mallick, N. (2003). Biotechnological potential of *Chlorella vulgaris* for accumulation of Co and Ni from single and metal solution. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19, 695-701.
- Maltby, W. (1991). Wetlands- their status and role in the biosphere. En M. Jackson, D. Davies, y H. Lambers (Eds), Plant life under Oxygen Deprivation. *Ecology, Physiology and Biochemist Academic Publishing* (pp. 3-21). The Hague.
- Maridueña, A., Chalén, N., Coello, D., Cajas, J., Elías, E., Solís, P., Aguilar, F., Pesantes, F., Macías, P. y Revelo, W. (2011). Mortandad de peces de la laguna de Yahuarcocha, cantón Ibarra, Provincia de Imbabura. Febrero 2003 (Boletín especial Instituto Nacional de Pesca 02-1). Recuperado de <https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/4501/ok%20MORTANDAD%20%20DE%20PECES%20EN%20LA%20LAGUNA%20DE%20YAGUARCOCHA.p>
- Martin, P., McDaniel, T., Hughes, K. y Hunter, B. (2011). Mercury and other heavy metals in free-ranging mink of the lower Great Lakes basin, Canada, 1998–2006. *Ecotoxicology*, 20, 1701-1712.
- Mitsch, W. y Gosselink, J. (2015). *Wetlands* (5 ed.). New York, Estados Unidos.
- Módenes, A., De Abreu, J. y EspinosaQuiñones, F.(2009). Cadmium biosorption by non-living aquatic macrophytes *Egeria densa*. *Water Science technology*, 60(2), 293-300.

- Moreno, E., Argota, G., Tapia, R., Saavedra, M., Limachi, S. y Goyzueta, G. (2018). Cuantificación de metales en sedimentos superficiales de la bahía interior, lago Titicaca-Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(1), 9-18.
- Murcia, F. (2014). CONGRESO NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE. España.
- Navarro, J., Aguilar, I. y López, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16, 10-25.
- Olguín, E. y Sánchez, G. (2012). Heavy metal removal in phytofiltration and phycoremediation: the need to differentiate between bioadsorption and bioaccumulation. *New Biotechnology*, 30 (1), 3-8.
- Pestana, I., Meneguelli-Souza, A., Gomez, M., Almeida, M., Suzuki, M., Vitória, A. y Souza, C. (2017). Effects of a combined use of macronutrients nitrate, ammonium, and phosphate on cadmium absorption by *Egeria densa* Planch. and its phytoremediation applicability. *Springer Science + Business Media B. V.*
- Pabón, J. (2015). *Distribución y evaluación de la vegetación macrofítica en el lago de Yahuarcocha, provincia de Imbabura* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.
- Paris, C., Hadad, H. y Maine, M. (2000). *Selección de macrófitas para la absorción de plomo*. Actas IV Encuentro Nacional de Jóvenes Investigadores, U. N. L., Santa Fe, Argentina: 45-46.
- Pernía, B., Mero, M., Muñoz, J., Bravo, K., Morán, N., Zambrano, J. y Torres G. (2016). Plantas acuáticas con potencial para fitoextracción de cadmio en arrozales del cantón Daule, provincia del Guayas, Ecuador. *Revista Científica de Ciencias Naturales y Ambientales* 10 (2), 25-30.
- Ramsar. (2014). Ramsar. Gland: Ramsar Sites Information Services. Recuperado de <https://www.ramsar.org/about/the-importance-of-wetlands>
- Ramsar. (2018). Perspectiva mundial sobre los humedales: Estado de los humedales del mundo y sus servicios a las personas. Gland (Suiza).Secretaría de la Convención de Ramsar.
- Rizzo, A., Daga, R., Arcagni, M., Perez, S., Bubach, D., Sanchez, R., Ribeiro, S. y Arribére, M. (2010). Concentraciones de metales pesados en distintos compartimentos de lagos andinos de Patagonia Norte. *Ecología Austral*, 20, 155-171.

- Robinson, B., Schulin, R., Nowack, B., Roulier, S., Menon, M., Clothier, B., Green, S. y Mills, T. (2006). Phytoremediation for the management of metal flux in contaminated site. *Snow Landscape Research*, 80, 221-234.
- Rosa, A. y Tigris, J. (2007). Bioremediation Process on Brazil Shoreline. *Envirometal Pollution*, 14(7), 470–476.
- Rovira, J.V. (1993). *Estudio de la contaminación por metales pesados del Rio Jaramal* (Tesis Doctoral). England, London.
- Rúa, A., Flóres, M. y Palacio, B. (2013). Variación espacial y temporal en los contenidos de mercurio, plomo, cromo y materia orgánica en sedimento del complejo de humedales de Ayapel, Córdoba, noroccidente colombiano. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 69, 244-255.
- Ruiz-Sevilla, G. (2002). Variaciones morfométricas del lago de Zirahuén, Michoacan, Mexico: Instituto de Investigaciones sobre los Recursos naturales Universidad Michoacana de San Nicolas. Michoacan, Mexico: Comisión de Pesca del Estado de Michoacán.
- Saadia, R. y Azka, A. (2016). Comparative evaluation of phytoremediation of metal contaminated soil of firing range by four different plant species. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(6),806–814
- Sánchez, G.(2016). *ECOTOXICOLOGÍA DEL CADMIO*. (Tesis pregrado. Universidad complutense, España.
- Shinomol, K., Bhanu, K., Deepa, N., Pooja, S., Ashwini, T. y Suchandrima, D. (2016). A Study on the potential of moringa leaf and bark extract in bioremediation of heavy metals from water collected from various lakes in Bangalore. *Procedia Enviromental Science*, 35, 869-880.
- Singh, A., Sharma, R., Agrawali, M. y Marshall, F. (2010). Risk assessment of heavy metal toxicity through contaminated vegetables from waste water irrigated area of Varanasi, India. *Tropical Ecology*, 51(2), 375-387.
- Shengqui, S., Yiming, Z., Jian, Q., Wei, W., Weizhi, Y., Liang, S. (2012). Physiological responses of *Egeria densa* to high ammonium concentration. *Chemosphere*, 86, 538-545.

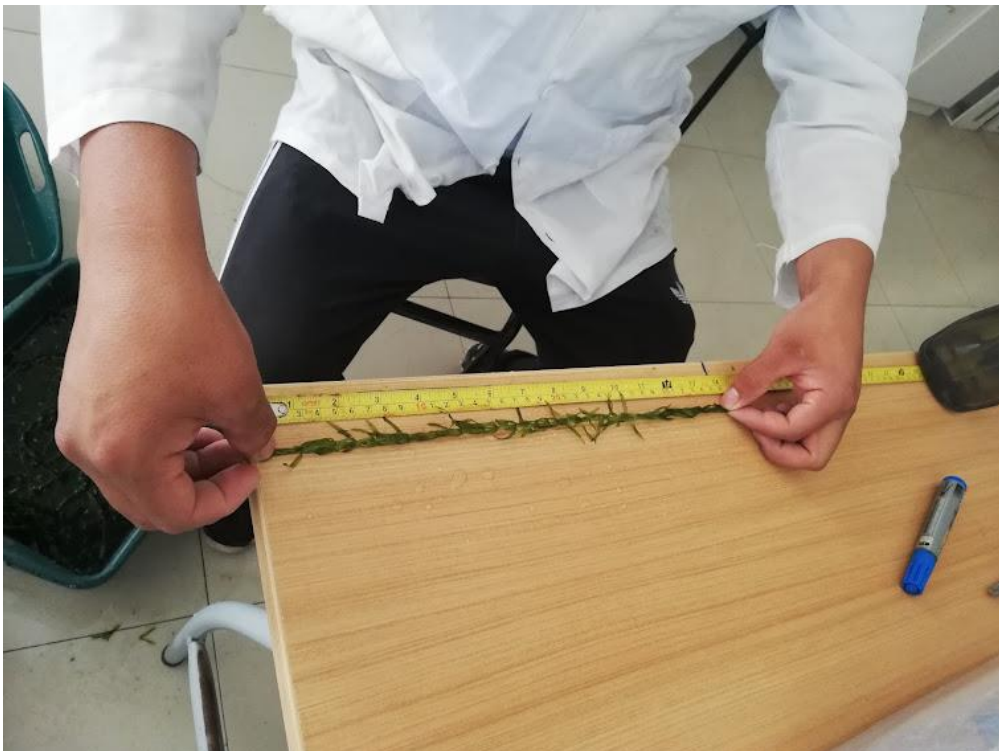
- Tobón-Marulanda, F., López-Giraldo, F. y Paniagua-Suárez, R. (2010). Contaminación del agua por plaguicidas en un área de Antioquia. *Rev. Salud pública*, 12(2), 300-307.
- Tulonen, T., Pihlström, M., Arvola, L. y Rask, M. (2006). Concentrations of heavy metals in food web components of small, boreal lakes. *Boreal environmentResearch*, 11, 185-194.
- Xing, W., Wu, H., Hao, B., Huang, W. y Liu, G. (2013). Bioaccumulation of heavy metals by submerged macrophytes: Looking for hyperaccumulators in eutrophic lakes. *Environmental Science and technology*. 47, 4695-4703.
- Zhang, W., Jin, X., Di, Z., Zhu, X. y Shan, B. (2016). Heavy metals in surface sediments of the shallow lakes in eastern China: their relations with environmental factors and anthropogenic activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 25364-25373.
- Zouainia, S., Djebbar, M., Sbartai, H. y Cherait, A. (2016). Toxicological impact assesement of cadmium on aquatic macrophyte: elodea canadensis. *Studia Universitatis "Vasile Goldiș", Seria Științele Vieții*, 36, 375-380.

ANEXOS

Anexo 1. Lavado de muestras colectadas de *Egeria densa*



Anexo 2. Homogenización de muestras vegetales



Anexo 3. Periodo de adaptación de *Egeria densa* en laboratorio



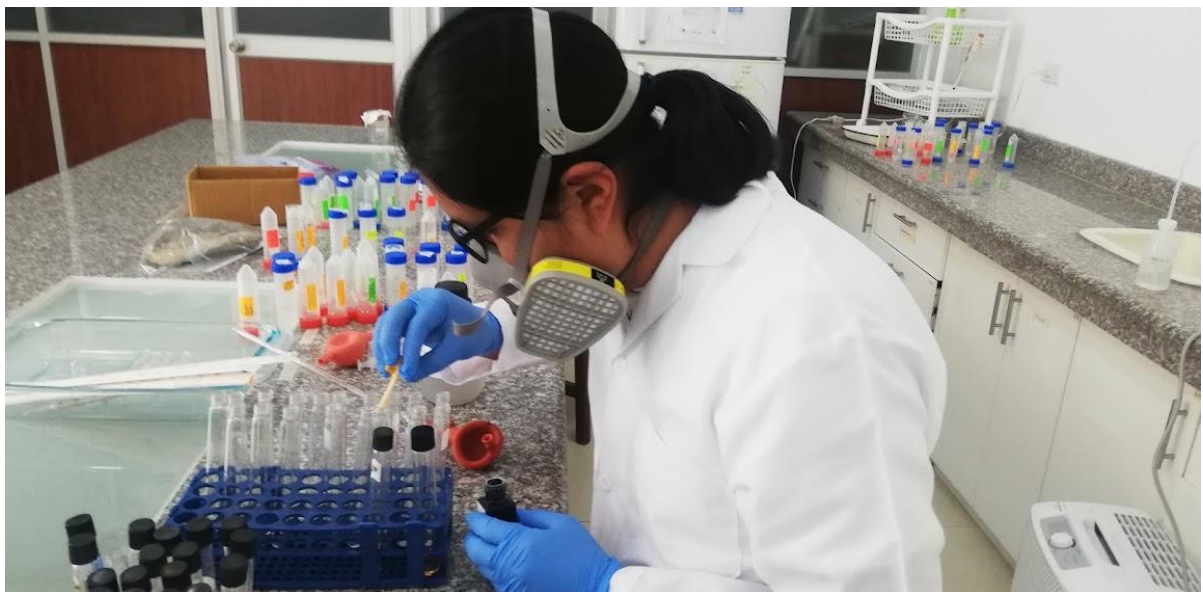
Anexo 4. Implementación d biorreactores con sales metálicas



Anexo 5. Pesaje de sales metálicas



Anexo 6. Dilución de sales metálicas



Anexo 7. Colocación de metales pesados en los biorreactores



Anexo 8. Colocación de nutrientes de Fosforo y Nitrógeno

