



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE GUAYAQUIL

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**FITORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS (AS, CD Y PB) A PARTIR DE DOS PLANTAS PTERIDOFITAS EN SEDIMENTOS DEL ECOSISTEMA DE MANGLAR EL SALADO, GUAYAQUIL- ECUADOR**

Trabajo de Titulación previo a la Obtención del  
Título de Ingeniería en Biotecnología.

**AUTOR:** SCARLET JAMILET ANDRADE ZAVALA

**TUTOR:** MGS. JAIME ALBERTO NARANJO MORÁN

Guayaquil- Ecuador


2023

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Yo, Scarlet Jamilet Andrade Zavala con documento de identificación N° 0930559182 manifiesto que: Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación: **“FITORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS (AS, CD Y PB) A PARTIR DE DOS PLANTAS PTERIDOFITAS EN SEDIMENTOS DEL ECOSISTEMA DE MANGLAR EL SALADO, GUAYAQUIL-ECUADOR**, el mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor, me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que entrego el trabajo en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, septiembre del 2023



Scarlet Jamilet Andrade Zavala

Cédula: 0930559182

## CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación:  
**FITORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS (AS, CD Y PB) A PARTIR DE DOS PLANTAS PTERIDOFITAS EN SEDIMENTOS DEL ECOSISTEMA DE MANGLAR EL SALADO, GUAYAQUIL- ECUADOR** realizado por Scarlet Jamilet Andrade Zavala, obteniendo el *Trabajo Experimental*, que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, septiembre 2023

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Jaime Naranjo', with a stylized flourish at the end.

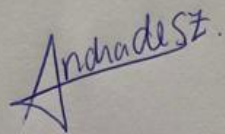
Ing. Jaime Naranjo

C.I 0927155226

## DECLATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Scarlet Jamilet Andrade Zavala con documento de identificación N° 0930559182, autor del trabajo de titulación: **FITORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS (AS, CD Y PB) A PARTIR DE DOS PLANTAS PTERIDOFITAS EN SEDIMENTOS DEL ECOSISTEMA DE MANGLAR EL SALADO, GUAYAQUIL- ECUADOR**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental* es mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Guayaquil, septiembre del 2023



Scarlet Jamilet Andrade Zavala

C.I. 0930559182

## **DEDICATORIA**

A mi madre, gracias por ser un pilar fundamental en mi desarrollo personal, brindarme tus consejos y palabras de aliento en cada paso que doy.

A mis mascotas Fufi, Sasha y Duke.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por brindarme fortaleza y sabiduría.

A mi familia, gracias por brindarme su apoyo.

A mis tutores Ing. Jaime Naranjo y Ing. María Alejandra de la Cruz , por su ayuda a concretar el proyecto final de titulación.

A mi profesor, Ing. Kevin Cedeño; por su paciencia, dedicación y acompañamiento durante el proceso de evaluación de muestras para este proyecto.

A Jonathan Cedillo, Rosangela Zavala, por su tiempo y esfuerzo para ayudarme en realizar y finalizar mi trabajo de tesis.

A todos mis amigos, de manera especial a Emily Bustamante, Juan Flores , Maite González y Andrés Reinoso por su ayuda, escucharme y brindarme sus consejos en todo momento.

## RESUMEN

Los manglares son plantas que crecen en la interfaz de la tierra y poseen un ecosistema marino -costero, localizados en los trópicos y subtrópicos del planeta, destaca la especie denominada mangle. Alberga uno de los ecosistemas más diversos, por lo que se considera una de los lugares ecológicos más productivos del planeta, sin embargo, en los últimos años se ha visto afectado por la contaminación de residuos industriales y domésticos. Es por esta razón que es importante hallar estrategias Biotecnológicas, en este caso se aplicará la fitorremediación a partir de dos plantas Pteridofitas para poder preservar el ecosistema de manglar El salado presente en Guayaquil, Ecuador.

En el presente estudio se evaluó la capacidad remediadora de metales pesados (Arsénico, Cadmio y Plomo), factor de biacumulación y factor de translocación a través de 2 plantas pteridofitas *Dryopteris filix-mas* y *Pityrogramma ebenea* , distribuidas en 18 tratamientos, a partir de un proceso de digestión y equipo ICP-OES.

La fitorremediación emplea plantas para remover, renovar, reducir, volatizar o estabilizar sitios contaminados (Kelley et al,2000; Miretzely et. Al 2007). La fitorremediación representa un gran desafío tanto a nivel social como económico debido al avance tecnológico, equipos de alta tecnología y estudios científicos con información de gran relevancia (Lee et al.,2021).

**Palabras Clave: Fitorremediación, Pteridofitas, manglares**

### **ABSTRACT**

Mangroves are plants that grow on land and have a marine-coastal ecosystem. They are at the tropics and subtropics of the planet, there is a species that stands out called Mangrove (Mangle). This type of ecosystem is very diverse which considered by many experts one of the most productive ecological places on the planet, however in recent years it has been affected by pollution from industrial and domestic waste. For this reason, it is important to find Biotechnological strategies, which is phytoremediation, this technique is going to apply from two Pteridophyte plants to preserve mangrove forest of El Salado, which is in Guayaquil- Ecuador.

In the present study, the remedial capacity of heavy metals (Arsenic, Cadmium and Lead), bioaccumulation factor and translocation factor was evaluated through 2 pteridophyte plants *Dryopteris filix-mas* and *Pityrogramma ebenea*. , distributed in 18 treatments, based on a digestion process and ICP-OES equipment.

Phytoremediation employs plants to remove, renovate, reduce, volatilize, or stabilize contaminated sites (Kelley et al, 2000; Miretzely et. Al 2007). Phytoremediation represents a great socially and economically changes on account of technological progress, high-tech equipment, and scientific studies with highly relevant information (Lee et al., 2021).

Keywords: Phytoremediation, mangroves, pteridophytes



## INDICE DE CONTENIDO

### CAPÍTULO 1

1.1 Introducción.....	13
1.2 Planteamiento del Problema.....	14
1.3 Formulación del PROBLEMA.....	14
1.4 Justificación de la Investigación.....	14
1.5 Delimitaciones.....	15
1.6 Objetivos.....	16
1.6.1 Objetivo General.....	16
1.6.2 Objetivos Especificos.....	16
1.7 Hipótesis.....	16

### CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO.....	17
2.1 Importancia de los manglares.....	17
2.2 Efecto de los metales pesados en manglares.....	17
2.3 Fitorremediación.....	18
2.4 <i>D. filix-mas</i> .....	18
2.5 Arsénico.....	19
2.6 Concentración de Arsénico.....	19
2.7 Exposición de arsénico en humanos.....	19
2.8 Cadmio.....	20
2.9 Grados de tolerancia de cadmio.....	20

2.10 Exposición de cadmio.....	20
2.11 Plomo.....	20
2.12 Exposición de plomo.....	21

### CAPÍTULO 3

3. Materiales y Métodos.....	22
3.1 Toma de muestras.....	22
3.2 Cuantificación de la concentración de metales pesados (As, Cd y Pb).....	22
3.3 Conservación de sedimentos.....	24
3.4 Diseño experimental de plantas y monitoreo.....	25
3.5 Manipulación de las muestras.....	26
3.6 Medición de parámetros fisicoquímicos.....	26-27
3.7 Procedimiento para digestión de muestras.....	28
3.8 Digestión de muestras en el laboratorio de instrumental.....	28-29
3.9 Esterilación del material.....	30
3.10 Preparación de muestras para digerir.....	30
3.11 Digestión de muestras.....	31
3.12 Etapa de Filtrado.....	32
3.13 Análisis de crecimiento de brotes .....	32
3.14 Análisis de datos estadísticos.....	33

### CAPÍTULO 4

#### 4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Monitoreo inicial para plantas y suelo.....	34
4.2 Monitoreo inicial de muestras de sedimento manglar El salado.....	34-35

4.3 Material Biológico en presencia de arsénico.....	35
4.4 Muestras iniciales de cadmio en material biológico.....	36
4.5 Muestras iniciales de plomo en material biológico.....	37
4.6 Contaminación sedimento del Estero Salado de muestras iniciales .....	38
4.7 Factor de Bioconcentración (FB).....	38
4.8 Bioacumulación de pteridofitas hiperacumuladoras.....	39
4.9 Factor de translocación de pteridofitas hiperacumuladoras.....	40
4.10 Matriz para plantas pteridofitas con tratamiento.....	40
4.11 Cambio morfológico de plantas pteridofitas expuestas a As, Cd y Pb...41	
4.12 Matriz para Biomasa y suelo de Pteridofitas con tratamiento para As...42	
4.13 Matriz para biomasa y suelo de Pteridofitas con tratamiento para Cd....43	
4.14 Matriz para Biomasa y suelo de Pteridofitas con tratamiento para Pb....43	
4.15 Interpretación estadística de datos.....	44-45
4.16 Curvas de Calibración ICP-OES.....	46

## CAPÍTULO 5

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.....	48
5.2 Recomendaciones.....	48
5.3 Referencias .....	49-55
5.4 Anexo Tablas.....	55-60

#### **Anexos figuras**

Figura 1. Ubicación GPS , Finca San Jose. Google Maps.....	15
Figura 2. Toma de muestras de helechos.....	22

Figura 3. Ubicación de los puntos muestreo de sedimento.....	23
Figura 4. Colección de muestras, lugar Malecón -Punto 2.....	24
Figura 5 .Colección de muestras en Malecón Miraflores- Punto 3.....	24
Figura 6. Proceso de diseño experimental .....	26
Figura 7. A- Procedimiento medición de parámetros fisicoquímicos..	27
Figura 8. A-Medición de muestras de suelo y sedimento .....	28
Figura 9. Muestras de hojas, raíces de plantas pteridofitas.....	29
Figura 10. Equipo One touch –Mars 6.....	31
Figura 11. Proceso de actividades manipulación de muestras y trabajos de digestión de muestras en el laboratorio de la institución.....	32
Figura 12. Crecimiento de brotes de plantas pteridofitas.....	33
Figura 13. Cambio morfológico de las plantas pteridofitas pasado 2 meses..	41
Figura 14. Tabla de matrices valores iniciales del experimento.....	44
Figura 15. A- Tabla análisis de varianza de As , Cd y Pb.....	45
Figura 16. Curva de Calibración de Cadmio, Pb y As.....	46

### **Anexos tablas (55-60)**

Tabla 4. Peso de las muestras de plantas y de suelo
Tabla 5. Peso de las muestras de plantas y de suelo (Molienda)
Tabla 7. Peso de las muestras de plantas (Proceso de Digestión)
Tabla 8. Peso de las muestras de suelo (Proceso de Digestión)
Tabla 13. Valores del crecimiento de brotes en los tratamientos
Tabla 14. . Matriz de plantas con tratamiento

## Capítulo 1

### 1.1 Introducción

El manglar El Salado se delimita en el Estero Salado, de la ciudad de Guayaquil-Guayas, Ecuador. Este sitio es de suma importancia dado que presenta majestuosa fauna y flora del área del Golfo, se caracteriza por tener un gran paisaje, representado con la parte estética y recreativa. Goza de 10,635 hectáreas, lo relevante de este manglar no solo es en la fauna y flora, sino también en sus paisajes y áreas de recreación, que aportan al desarrollo turístico de la ciudad (Guido Poveda Burgos y Pedro Avilés Almeida, 2018).

Los helechos hiperacumulan arsénico en particular los géneros *Pteris* sp., *Pityrogramma* sp., también son conocidos como fitorremediadores y fitoestabilizadores al género *Nephrolepis* sp., *Polypodium* sp., *Adiantum* sp., *Blechnum* sp. y *Hypolepis* sp. Las pteridofitas han demostrados ser fitorremediadoras de una gran cantidad de metales pesados y son de gran importancia en estrategias de remediación de suelos y aguas, al aportar de forma significativa a los servicios ecosistémicos frente a la actividad antropogénica (Praveen & Pandey, 2020).

Las plantas poseen la facultad de almacenar cantidades importantes de metales pesados (Rehman et al., 2017). Las familias de plantas involucradas en los procesos de remediación son Brassicaceae, Pontederiaceae, Salvinaceae, Araceae, Pteridofitas entre otras (Jeyasundar et al., 2021; Kodituwakku y Yatawara, 2020; Ma et al., 2018; Victor et al., 2016; Zehra et al., 2020).

El estudiar la biodisponibilidad de los metales pesados es el factor clave para investigar los procesos patológicos de las plantas (de Oliveira et al., 2017; Sas-Nowosielska y Pawlas, 2015).

## **1.2 Planteamiento del problema**

El ecosistema de manglar funciona como un filtro que evita la entrada de material suspendido de otros ecosistemas, siendo un eslabón entre la vida marítima y la vida terrestre, retiene sedimentos y filtra sales minerales integrándolos a una gran cadena alimenticia (Guido Poveda Burgos y Pedro Avilés Almeida, 2018).

## **1.3 Formulación del problema**

No se han realizado estudios oficiales de como las plantas Pteridofitas poseen un potencial Biorremediador frente a la contaminación de metales pesados (As, Cd y Pb) en sedimentos de Manglar El Salado, Guayaquil – Ecuador.

## **1.4 Justificación de la investigación**

El incremento de los índices de contaminación por metales pesados afecta a todos los seres vivos. A consecuencia de esto surgen problemas agrícolas y de salud que en muchos casos son desconocidos por la población ecuatoriana (Zalakeviciute et al., 2021).

## 1.5 Delimitaciones

Se recolectó las muestras de ambas plantas en la Finca San José – Milagro, Ecuador. A continuación, el punto de muestreo con su respectiva ubicación.



Figura 1. Ubicación GPS, Finca San José. Google Maps Fuente: (Google Maps, 2023).

## 1.6 Objetivos

### 1.6.1 Objetivo general

- Generar una fitorremediación de metales pesados (As, Cd y Pb) en sedimento del ecosistema de Manglar “El Salado” a partir de *Dryopteris filix-mas* y *Pityrogramma ebenea*.

### 1.6.2 Objetivos específicos

- Cuantificar la concentración de metales pesados (As, Cd y Pb) en el sedimento del ecosistema de manglar “El Salado” mediante el ICP-OES.
- Determinar la bioacumulación de As, Cd y Pb a través de dos especies pteridofitas (*Dryopteris filix-más* y *Pityrogramma*) *ebenea* crecidas en macetas bajo condiciones controladas.

## 1.7 Hipótesis

*Pityrogramma ebenea* y *Dryopteris filix-mas* son plantas bioacumuladoras de Metales pesados (Arsénico, Cadmio y Plomo) presentes en el medio.

### **Nula**

*Pityrogramma ebenea* y *Dryopteris filix-mas* no son plantas bioacumuladoras de Metales pesados (Arsénico, Cadmio y Plomo) presentes en el medio.



## Capítulo 2

### 2. Marco teórico

#### 2.1 Importancia de los manglares

Ámbito ambiental. - Reduce el impacto de las mareas a través del barro con ello generar un pantano y así tener lugar óptimo para el hábitat de ciertos organismos,estabilizador de la Línea Costera, barrera natural contra las barreras (Guido Poveda Burgos y Pedro Avilés Almeida, 2018).

El ecosistema de manglar opera de manera tal, que filtra el material suspendido de otros hábitats, siendo un puente entre la vida marítima y terrestre, estos se integran a la cadena trófica, donde se filtran sales minerales, metales pesados y otros contaminantes en los tejidos de los organismos vivos (Guido Poveda Burgos y Pedro Avilés Almeida, 2018).

#### 2.2 Efecto de los metales pesados en manglares

Los metales pesados se caracterizan por ser elementos químicos que tienen una densidad promedio de 5 g/cm<sup>3</sup> al estar en forma elemental, y con un número atómico mayor a 20 (Vardanyan & Ingole, 2006).

Los mecanismos de tolerancia elevada dan a denotar bioacumulación y pueden llegar a biomagnificarse tal como se dan los diversos escalones de las cadenas tróficas; si presentan cifras altas de concentraciones, causan problemas en el hábitat de los seres vivos (Roy et al., 2005).

Los metales pesados representan un factor de riesgo para la salud , al estar presentes en el ámbito ambiental y laboral, también destacan otros peligros potenciales ,tal como lo enfatiza la Agencia Estadounidense para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades, que clasifica a los riesgos de los residuos tóxicos de forme a su predominancia y niveles de intoxicación que provocan, entre los más peligrosos destacan los siguientes el mercurio, el plomo , el arsénico

y el cadmio; este último se posiciona como el número 6 de la lista que ofrece esta agencia, de modo que es de gran atención por su toxicidad (Pérez & Azcona, 2012).

### **2.3 Fitorremediación**

“La fitorremediación, el uso de especies vegetales para remediar los medios ambientales, se persigue como un nuevo enfoque para la limpieza de suelos y aguas contaminados, incluidas las aguas subterráneas. La biorremediación asistida por plantas, conocida como un tipo de fitorremediación, implica la relación de las raíces de las plantas y los microorganismos asociado con este sistema de raíces para remediar suelos que contienen concentraciones elevadas de compuestos orgánicos” (Morel, Echevarria & Goncharova, 2006).

“Estas técnicas podrían proporcionar métodos rentables para remediar suelos y aguas subterráneas contaminados con metales, radionúclidos y varios tipos de compuestos orgánicos” (Morel, Echevarria & Goncharova, 2006).

#### **2.4 *D. filix-mas***

Prefiere las zonas húmedas umbrías del sotobosque de los bosques, pero también los lugares umbríos de los setos y las rocas, la planta a veces se denomina en la literatura antigua como gusano helecho porque se ha empleado tradicionalmente para las de infecciones por gusanos (Mohammed Abdus Satter et al. 2016); sin embargo, existe información documentada sobre las actividades biológicas o medicinales de *D. filix-mas* y la mayoría de los informes se centran en los helechos como clase.

Dryopteridaceae es una hierba perenne de hoja perenne de hoja caduca que crece hasta 60 -150 cm de altura, con rizomas. Es una planta eficaz para cubrir el suelo y es originaria de América del Norte, Europa y Asia; posee una gran fronda triangular de color verde claro, se encuentra comúnmente en arroyos, lugares con sombra y zonas de humedales (Sekendar et al., 2012).

En la medicina tradicional, las hojas y el rizoma se utilizan para tratar artritis reumatoide, inflamación, malaria, infestación por gusanos, la hemorragia interna, el sangrado uterino, la fiebre, las paperas, los ántrax y las llagas (Sekendar et al., 2012).

La planta crece en todas partes de Asia templada, Europa, India, las partes templadas de EE. UU. y también crece en África (Uwumarongie, Enike & Bafor2016). La planta es muy adaptable y puede crecer bien tanto en suelos áridos como fértiles (Duke, 2001).

## **2.5 Arsénico**

El arsénico se encuentra distribuido en gran porcentaje de la corteza terrestre, este elemento se considera como metaloide en el ámbito químico; por otro lado el arsénico elemental presente de manera sólida con un característico color gris, no obstante , en el ambiente se presenta junto a otros elementos , tales como cloro , azufre y oxígeno (ATSDR, 2007).

Algunos compuestos derivados del arsénico son solubles en agua, por lo que el arsénico fluye hacia lagos o ríos y se mezcla con los desagües industriales.

Una gran parte de este elemento en forma de partículas se une al agua o a los sedimentos del fondo de lagos o ríos, mientras que una parte, a su vez, es arrastrada por el agua (ATSDR, 2007).

## **2.6 Concentración de arsénico**

"La cantidad de arsénico presente en el suelo varía en algunos casos, los valores se encuentran entre 1 y 40 partes de arsénico por millón de partes de suelo (ppm) , aun cuando , los suelos propios de depósitos geológicos y fundiciones, o en áreas agrícolas donde se usaron plaguicidas , logran obtener presencia arsénico, en concentración alta" (ATSDR, 2007).

## **2.7 Exposición de arsénico en humanos**

Si una persona consume alimentos, agua o tierra contaminada con arsénico, la mayor parte de este elemento, llega al torrente sanguíneo, el porcentaje de arsénico que pasa a la sangre dependerá de la cantidad y del tipo de arsénico que la persona consuma, esta es la manera más probable de exposición cerca de un sitio de

residuos, otra manera la exposición es por medio de las vías respiratorias al inhalar aire que contiene polvos de arsénico y llega directamente a los pulmones (ATSDR, 2007).

## **2.8 Cadmio**

El cadmio no se halla en el ambiente en forma de metal puro; se lo puede encontrar en la naturaleza como óxidos complejos o sulfuros, este elemento no es caro, a razón de sus componentes como un efluente del procesamiento de metales más valiosos, tales como cobre y el zinc, sus principales aplicaciones son galvanoplastia y la galvanización, también se menciona su uso en plásticos, pigmentos para crear pinturas, cerámica y baterías (Pérez & Azcona, 2012).

## **2.9 Grados de tolerancia de cadmio**

"Es fundamental conocer que cantidad tolerable de cadmio; la ingestión diaria normal con la dieta (IDD) ha sido propuesta por algunas organizaciones internacionales que establecen como valor límite tolerable 7 µg/semana por kg de peso, por vía digestiva, consumos de hasta 100 mg producen síntomas gastrointestinales, mientras que a partir de los 350 mg se considera que es potencialmente mortal, por vía inhalatoria" (Pérez & Azcona, 2012).

## **2.10 Exposición al cadmio**

Los síntomas comunes frente a la exposición al cadmio se clasifican, en relación al tiempo y modo en que se da la exposición, y éstos pueden ser agudas o crónicas; por otro lado las intoxicaciones se dan en la población general, debido a accidentes o consumo de alimentos infectados; en cambio en ámbito laboral se presenta un mayor índice de intoxicaciones graves (Pérez & Azcona, 2012).

Una vez que el cadmio ingresa al organismo humano afecta a los huesos, los riñones; investigaciones revelan que el arsénico induce a tener efectos neurotóxicos y teratogénicos (Pérez & Azcona, 2012).

## **2.11 Plomo**

El plomo es un metal que se encuentra en forma natural en la corteza terrestre, está disperso en el medioambiente, como el aire, el agua y la tierra, este elemento es compatible con otras sustancias químicas para desarrollar distintos compuestos,

se usa en la fabricación de pilas, municiones y productos de metal como las soldaduras y tuberías (ATSDR, 2020).

### **2.12 Exposición de plomo**

“Las personas pueden verse expuestas al plomo en su lugar de trabajo o en su entorno, a través de: la inhalación de partículas de plomo generadas por la combustión de materiales que contienen este metal (por ejemplo, durante actividades de fundición, reciclaje o decapado de pintura con plomo, o al utilizar combustible para la aviación con plomo); la ingestión de polvo, agua o alimentos contaminados con plomo (por ejemplo, agua canalizada a través de tuberías de plomo o alimentos envasados en recipientes con esmalte de plomo o soldados con este metal)” (OPS, 2022).

## Capítulo 3

### 3. Materiales y métodos

#### 3.1 Toma de muestras:

Para iniciar el procedimiento se escogió dos especies de helechos y fundas de vivero. Las pteridofitas estudiadas fueron *Dryopteris filix-mas*, *Pityrogramma ebenea*.

**Tabla 1. Cantidad de especies para la experimentación.**

Nombre de la especie	Cantidad de especies
<i>Dryopteris filix-mas</i>	75 plantas
<i>Pityrogramma ebenea</i>	75 plantas

Elaborado por: (Andrade, 2023)



Figura 2. Toma de muestras de helechos (*Dryopteris filix-mas*, *Pityrogramma ebenea*), Milagro –Ecuador. Fuente: (Andrade, 2023).

#### 3.2 Cuantificación de la concentración de metales pesados (As, Cd y Pb).

Puntos de muestreo: Ubicación del sitio de estudio

Se recolectó muestras en sedimentos del ecosistema de manglar El Salado, Guayaquil- Ecuador. A continuación, se muestran los tres puntos estratégicos de muestreo, con su respectiva ubicación (Identificación a partir de puntos azules).

Ubicación (Identificación a partir de puntos Azules).

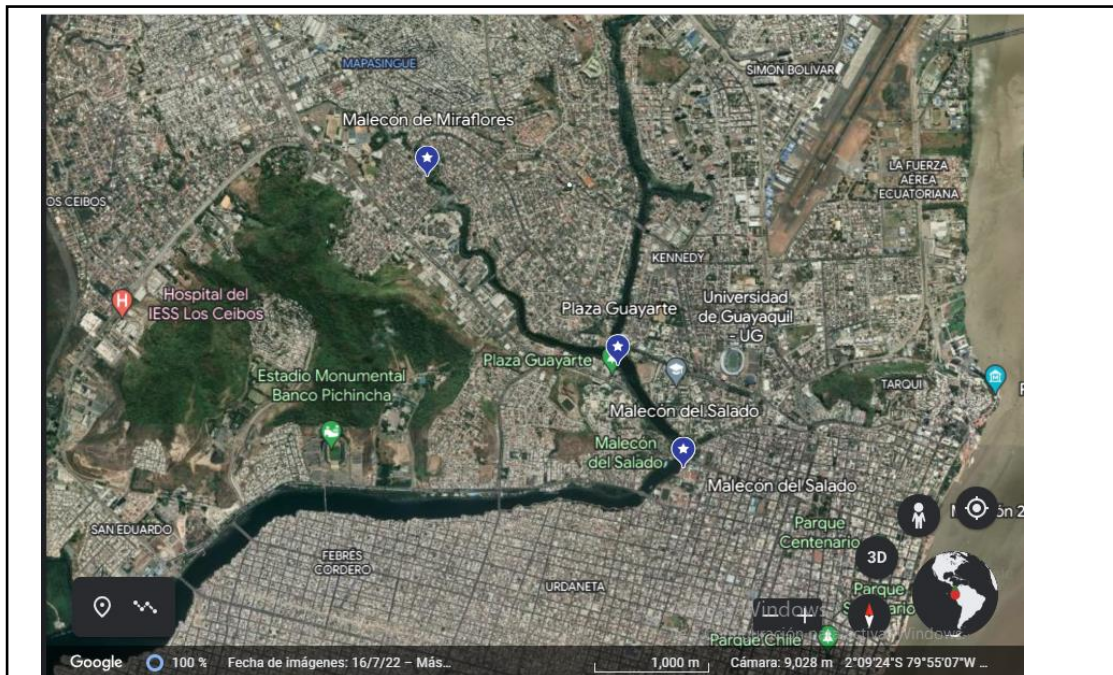


Figura 3. Ubicación de los puntos muestreo de sedimento. Fuente : ( Google Maps, 2023).

A continuación, las características de los tres puntos de muestreo específicos:

**Tabla 2. Datos geográficos de los puntos de muestreo.**

Punto	Nombre	Latitud	Longitud	Grado
1	Observatorio Malecón Del Salado	- 21.866.66 7	-79.9	2°11'12''S 79°54'00''W
2	Parte Dos Guayarte	- 2.180.284 7	- 79.902.71 7	2°10'49.0"S 79°54'09.8"O
3	Malecón De Miraflores	- 2.164.645 7	- 79.917.84 7	2°09'52.7"S 79°55'04.3"O

Elaborado: (Andrade ,2023).\_Fuente: Google Earth



### 3.3 Conservación de sedimentos

Para el muestreo de sedimentos de fondo se utilizó una pala, las muestras fueron georreferenciadas para su mejor localización, dispuestas en fundas ziploc y posterior a ello, se colocó las muestras en tres tachos de pintura sellados y rotulados para resguardar la trazabilidad, luego se almacenaron las muestras a temperatura ambiente, para la adecuada preservación temporal de las citadas muestras, para llevarlas al laboratorio (Muyulema, Canga, & Pucha, 2019).



Figura 4. Colección de muestras, lugar Malecón -Punto 2. Fuente: (Andrade,2023)



Figura 5. Colección de muestras en Malecón Miraflores- Punto 3. Fuente : (Andrade,2023)



### 3.4 Diseño experimental de plantas y monitoreo

Para el montaje en tierra de las plantas pteridofitas se emplearon 18 fundas para vivero, se empleó sustrato tratado que contiene turba/arena/humus de lombriz en proporción 1:1:1; proporciones de 25%,50%,100% de sedimento Manglar el El salado( mix de 3 puntos estratégicos, mencionados en la **Tabla 2**). **En el caso de las plantas pteridofitas se utilizó 75 plantas de *Dryopteris filix-mas* y 75 plantas de *Pityrogramma ebenea*.**

Se optó por distribuir por 3 bloques de tratamiento por especie, es decir 6 unidades por cada experimento, por tanto fueron 18 tratamientos y dos tratamientos adicionales, es decir para control de sedimento y otro para control de sustrato, dando un total de 20 tratamientos para para este experimento Verse **Tabla 10**.

El riego se realiza pasando un día durante un periodo de 3 meses comprendido entre Julio 2023 y Septiembre de 2023.

Después de la toma de muestras de plantas pteridofitas, se procedió al lavado de las raíces con abundante agua. A continuación se colocó sustrato tratado + proporción de sedimento (25%,50% y 100%) dependiendo del tratamiento, se roturo con etiquetas tal como se lo menciona en la **Tabla 10**.

Haciendo referencia a la **Tabla 11**, se llevó a cabo un proceso de monitoreo durante los 3 meses empleando una bitácora de la evolución de los tratamientos, cambios morfológicos, fisiológicos de la planta y cuantificación de la cantidad, aspecto y tamaño de brotes.



Figura 6. Proceso de Diseño experimental. A- Lavado de plantas pteridofitas. B- Plantas pteridofitas listas. C- Preparación de sustrato tratado y sedimento de manglar El Salado. D- Montaje de Experimento. E- Etiquetado por tratamiento. F- Experimento por tratamiento. Elaborador por : ( Andrade,2023).

### 3.5 Manipulación de las muestras

Se conservó el sedimento en cuestión, se recomienda tomar los parámetros fisicoquímicos entre ellos destaca el pH, la densidad, TDS y conductividad.

### 3.6 Medición de parámetros fisicoquímicos

Para este desarrollo experimental se tomó una muestra de sedimento de los 3 puntos, suelo y agua. Se disolvió en un vaso de precipitación 10 g de la muestra + 20 ml de agua destilada y llevar a agitan en una plancha agitadora.

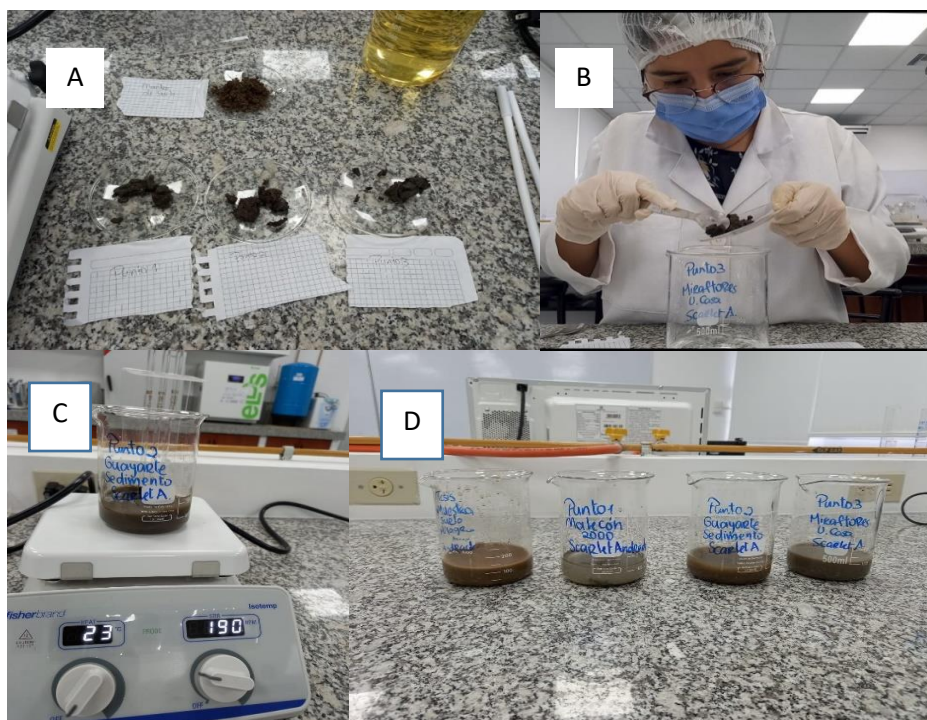


Figura 7. Procedimiento medición de parámetros fisicoquímicos. A- Muestras de Sedimento (3 puntos) y Suelo Milagro; B- Preparación 10 g de muestra+ 20 ml de agua destilada; Fuente: (Autor ,2023); C- Llevar las 4 muestras a la plancha agitadora, por un tiempo de 10 min; D- Muestras de Suelo y Sedimento listas para analizar. Elaborado por: (Andrade, 2023) .

**Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de las muestras.**

Nombre	pH	COND ( $\frac{\mu S}{cm}$ )	TDS ( ppm)
Muestra suelo Milagro	6,10	870	583
Punto 1 Malecón del Salado (Sedimento)	6,92	870	563
Punto 2 Guayarte ( Sedimento)	7,40	1015	646
Punto 1 Malecón del Salado( Sedimento)	7,63	362	229
Agua potable	6,74	234	229

Fuente: (Andrade , 2023)

### 3.7 Procedimiento para digestión de muestras:

Con ayuda de un mortero eléctrico, se pulveriza la muestra. Luego llevarla a una balanza analítica, para proceder a pesar la biomasa obtenida. Una vez realizado este proceso, se puso en viales de teflón y se agregó 6 ml de ácido nítrico al 65%, y a su vez se añadió 2 ml de peróxido de hidrógeno al 30%. Llevar las muestras a un digestor por microondas por un periodo de una hora, con una temperatura de 200 °C. Utilizando un papel filtro, colar el contenido (Fisher, 2021).

“Teniendo nuestro producto filtrado, se procede a analizarlo con Espectroscopia de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP- OES). Las muestras serán introducidas en forma líquida, posterior a ello serán transformadas por medio de un nebulizador en aerosol y excitadas mediante un plasma de argón. Esta técnica de análisis permite determinar y cuantificar una gama importante de elementos , a excepción de C,N,O,H,F, gases nobles tierras raras, en concentraciones que van desde % hasta  $ppb \left(\frac{\mu g}{L}\right)$ ” (Petroleoquímica, 2019).

“El factor de bioacumulación se calculó promedio de número de elemento absorbido por la planta, dividida entre el número de elemento presente en el suelo “(Maldonado et al., 2011).

### 3.8 Digestión de muestras en el laboratorio de instrumental.

Se decidió dividir las muestras en dos secciones, con el fin de realizar el proceso de digestión de muestras de manera adecuada, se deben respetar ciertos criterios. (Fisher, 2021)

- Muestras de helechos (*Dryopteris filix-mas*, *Pityrogramma ebenea*):  
Hojas y raíces.
- Muestras de suelo: Sedimento al 100%, sedimento al 50%, sedimento al 25% y suelo del lugar de origen de las plantas (Milagro - Guayas).

Primero, se pesó 5 g cada una de las muestras, con ayuda de una balanza analítica, discos estáticos para pesar y cucharas dosificadoras. **Ver tabla 4.**



A continuación: Evidencia del procedimiento



Figura 8. A- Medición de muestras de suelo y sedimento; B- Muestras de sedimento y suelo; C- Muestras de hojas de *Pityrogramma ebenea*. Fuente: (Andrade, 2023).

Después se pesó las muestras, se colocó en cajas de papel aluminio para conservar la muestra y se puso en la estufa a una temperatura de 101 °C con el fin de eliminar la humedad presente, se esperó entre 3 a 4 días.

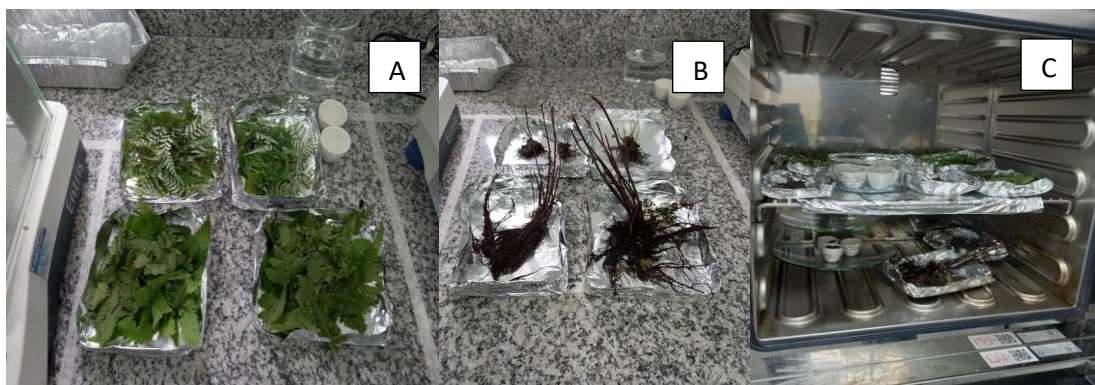


Figura 9. A-Muestras de hojas (Helecho macho y Helecho blanco); B- Muestras de Raíces Helecho macho y Helecho blanco; C- Colocar las muestras de plantas y muestras de suelo, en la estufa. Fuente: (Andrade, 2023).

Posterior a ello, se molió y se trituro las muestras con un mortero manual y se pesó 0.5gr de cada muestra, con la ayuda de una balanza analítica. **Verse en la Tabla 5.**

### 3.9 Esterilización del material

Se lavó los tubos de digestión con (Ethan, agua tipo 1 y agua potable) y se secó los mismos con papel, se utilizó guantes de nitrilo y se rotuló los tubos (Fisher, 2021).

### 3.10 Preparación de muestras para digestar

Se colocó 0,5 gr de cada muestra a su respectivo tubo y se agregó 10 ml de ácido nítrico puro (usar guantes y cofia), se utilizó la cabina de flujo laminar y se dejó las muestras sin tapa por 20 min. **Verse en tabla 7 y 8**

Se colocó los ácidos dependiendo el tipo de muestra a analizar y en este caso al ser muestras distintas es decir (Plantas y suelo) la normativa del Equipo One Touch Technology- Mars 6 y se ejecutó la digestión en 2 etapas separadas y tomando en cuenta lo siguiente:

**Tabla 9. Parámetros a emplear en el proceso de digestión.**

Tipo de muestras	Ácidos	Parámetros
Plantas	10 ml de Ácido Nítrico	Ejecución: Plant Material Temperatura: 200°C
Suelo	6 ml de Ácido Nítrico + 3 ml de Ácido Clorhídrico	Ejecución : US EPA 3051

Elaborado por: (Andrade,2023).



Figura 10. Equipo One touch –Mars 6 . Fuente: (Andrade ,2023)

### **3.11 Digestión de muestras**

Se empleó los siguientes pasos tanto para las muestras de plantas como suelo. (Fisher, 2021).

Se colocó las muestras dentro del disco del digestor y se anotó en que orden se colocaban cada uno de los tubos, se cerró los tubos, este proceso dura 30 minutos.

### **3.11 Etapa de filtrado**

Se destapó los tubos a fin de evaporar los gases propios del ácido, se empleó embudos, matraz aforado de 50 ml, pal filtro, matraz de kitasano y se realizó la filtración; se enraizó hasta 500ml con ayuda de ácido nítrico al 2%.



Figura 11. Proceso de actividades de manipulación de muestras y trabajos de digestión en el aboratorio de la institución. Elaborado por :( Andrade,2023).

### 3.12Análisis de crecimiento de brotes

#### Tratamientos de estudio

#### Semana 4:

1 Mes después de iniciado el experimento

Por cada tratamiento existe un aproximado de 5 brotes, los cuales tienen una altura mayor a 5 cm, por ende, destaca la efectividad de los sustratos utilizados. A continuación, los valores en cm del crecimiento de los brotes rotulados con colores (ligas). **Revisar Tabla 11.**





Figura 12. Crecimiento de brotes de plantas pteridofitas. A- *Pityrogramma ebenea*; B- *Dryopteris filix-mas*. Elaborado por: (Andrade,2023).

### 3.14 Análisis de datos estadísticos

Los datos del presente estudio fueron analizados en el software informático, Infostat Versión 2017 para el análisis de las variables de tratamiento donde se utilizó un análisis de varianza ANOVA y una prueba de contraste de promedios TUKEY ( $p \leq 0.05$ ) para identificar que existen diferencias significativas entre los tratamientos planteados.

## Capítulo 4

### 4. Resultados y discusión

#### 4.1 Monitoreo inicial para plantas y suelo

En lo concierne a los resultados del monitoreo inicial de plantas y suelo de origen se encontró una acumulación más alta de arsénico con 188.85 ppm en el tratamiento 50% (Tabla 12), resultados similares se han obtenido en plantas de con una concentración de xx ppm de As, por otro lado investigadores han descubierto plantas de helechos que pueden absorber mayor cantidad de Cd y Pb en contraste con nuestro monitoreo inicial de plantas hiperacumuladoras.

**Tabla 12. Matriz monitoreo inicial para plantas y suelo.**

Especie	Muestra	Tratamiento	Arsénico (ppm)	Cadmio (ppm)	Plomo (ppm)
<i>Dryopteris filix-mas</i>	Hoja	25%	$0,10 \pm 0,10$	$0,75 \pm 0,65$	$0,45 \pm 0,55$
	Raíz		$3,85 \pm 2,75$	$0,80 \pm 0,20$	$0,90 \pm 0,90$
<i>Pityrogramma ebenea</i>	Hoja	50%	$79,45 \pm 79,15$	$0,10 \pm 0,10$	$0,60 \pm 0,60$
	Raíz		$188,85 \pm 189,25$	$0,35 \pm 0,35$	$0,20 \pm 0,10$
<i>Suelo</i>	Suelo	100%	$1,60 \pm 0,15$	$2,75 \pm 0,29$	$2,70 \pm 1,76$

Elaborado por: (Andrade,2023)

Se observó mayor presencia de metal arsénico, en las muestras iniciales, siendo la especie *Pityrogramma ebenea*, la muestra con mayor cantidad con un tratamiento de 50%. Lo que indica que esta planta puede acumular altas cantidades en la biomasa vegetativa.

#### 4.2 Monitoreo inicial de muestras de sedimento manglar El Salado.

En la **Tabla 13** se observó concentraciones altas de arsénico, cadmio y plomo en todas las muestras de sedimento, destaca presencia de contaminación en el medio, teniendo en cuenta que los valores más altos son en el cadmio con un valor de 2,45 ppm y plomo con un valor de 5,30 para sedimento de manglar.

Se encontró valores similares en la investigación de (Santana, 2020) donde se evaluó el riesgo de contaminación de metales pesados en diversos sedimentos de manglar en Ecuador, para ello en relación a los valores de la **Tabla 13**, se obtuvo la concentración de Cd en el sedimento de manglar Estero Salado con un valor de 4,33

mg/kg , lo que denota que pasado un periodo de tiempo de 2 años , las concentraciones de Cadmio en el medio , logran ser mayores.

En relación a la **Tabla 13.** destaca un valor inicial de Plomo de 5,30 ppm , se halló valores relacionados significantes en la investigación de (Santana, 2020) donde se evidencia para plomo 55.50 mg/kg y lo que resulta alarmante con respecto a la contaminación del ecosistema de Manglar el salado.

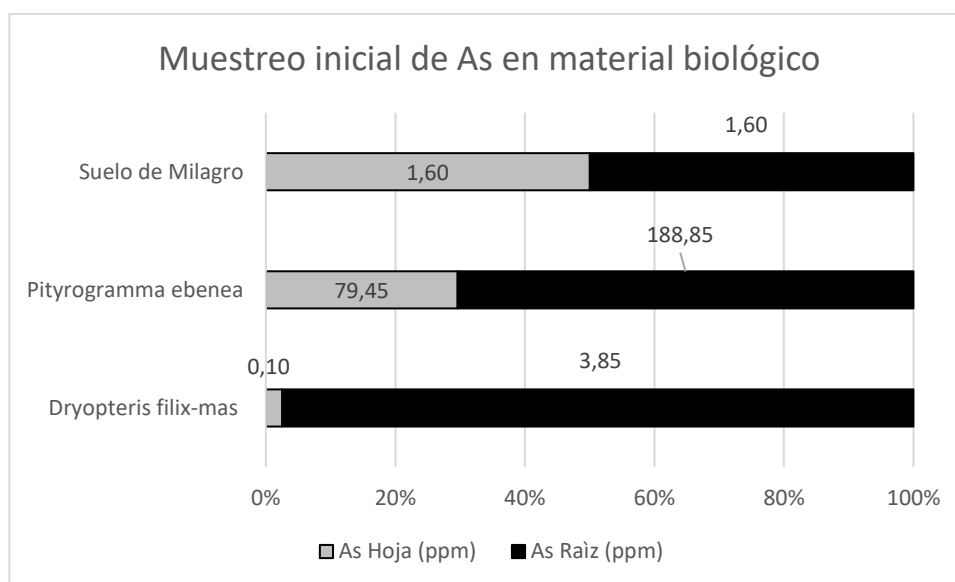
**Tabla 13. Matriz monitoreo inicial de muestras de sedimento manglar El Salado.**

Sedimento del Estero Salado	Muestra	Tratamiento	Arsénico (ppm)	Cadmio (ppm)	Plomo (ppm)
Sedimento 25%	Suelo	25%	1,55 ± 1,25	2,10 ± 0,60	0,20± 0,20
Sedimento 50%	Suelo	50%	1,60± 0,20	2,20± 0,10	2,15 ± 0,65
Sedimento 100%	Suelo	100%	0,45 ± 0,25	2,45 ± 0,35	5,30 ± 2,00

Elaborado: (Andrade, 2023)

#### 4.3 Material biológico en presencia de arsénico

**Gráfico 1. Muestreo inicial de arsénico en material biológico**



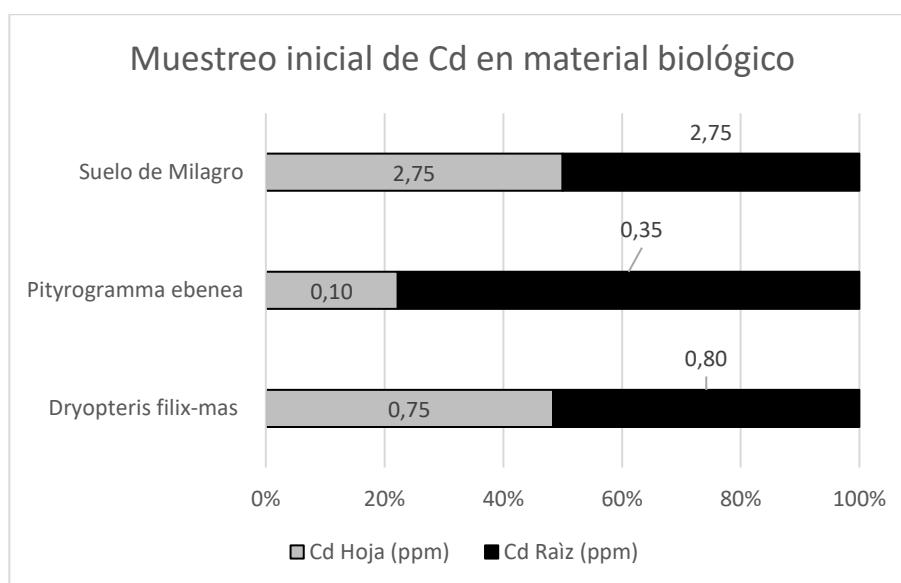
Elaborado por: (Andrade, 2023).

Con relación al **Gráfico 1**, se observó mayor concentración de arsénico en las raíces y suelo de nuestras iniciales, también destaca que el helecho *Pityrogramma ebenea*, es una planta bioacumuladora de metales pesados con un valor de 188,85 ppm de As.

Así como lo menciona Potera en 2010 la especie *Pteris vittata* (una variedad común de helecho) acumula enormes cantidades de arsénico, lo que concuerda con los valores obtenidos en el **Gráfico 1**, ya que esta especie pertenece a la misma familia que las plantas pteridofitas en cuestión que absorbe As del suelo y en una de investigación se descubrió que esta planta eliminó más de una cuarta parte del arsénico del suelo en un lapso de 20 semanas.

#### 4.4 Muestras iniciales de Cadmio en material biológico

**Gráfico 2. Muestreo inicial de cadmio en material biológico**



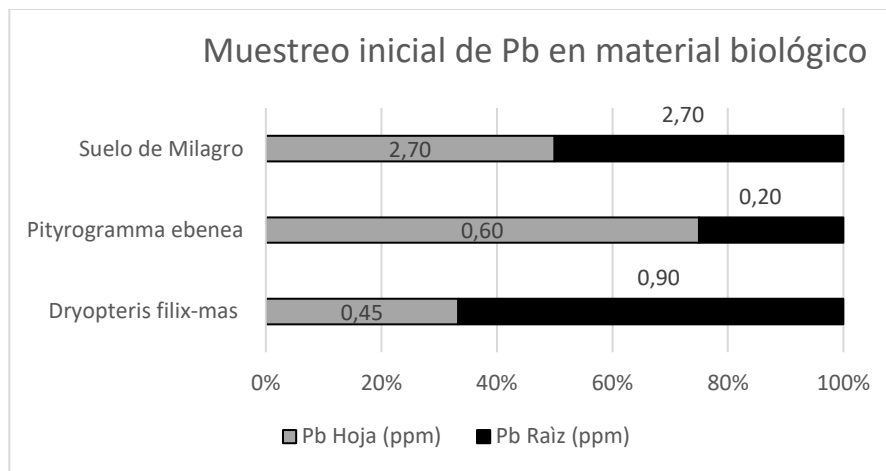
Elaborado por: (Andrade,2023)

Se examinó el material biológico inicial y se observó mayor presencia de cadmio en el suelo de Milagro, lo que manifiesta que esta finca se encontraba contaminada por metales pesados.

Resultados similares fueron encontrados en muestras iniciales de raíces de *Ocimum basilicum* (albahaca) con un valor de 61.17 % respecto fijación de cadmio es decir que existe mayor porcentaje de concentración de Cd en las raíces que las plantas a diferencia de las hojas (Reyes, 2020).

#### 4.5 Muestras iniciales de plomo en material biológico

**Gráfico 3. Muestreo inicial de plomo en material biológico**



Elaborado por: (Andrade, 2023).

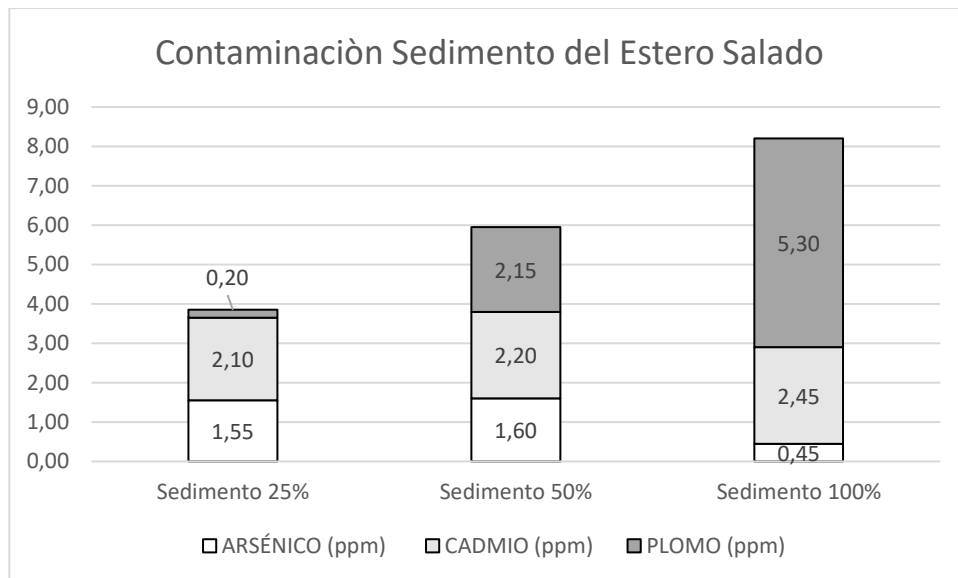
Para las muestras iniciales de material biológico, presentan bajos niveles de contaminación de metales pesados a diferencia de los niveles de arsénico y cadmio, no obstante se observa presencia de Pb , en el suelo de Milagro.

Así como menciona Ballesteros en 2011, que la especie *Azolla carolinia*, es una especie de helecho y posee un valor de concentración de 3 ppm para plomo, siendo mayor que las concentraciones de *Dryopteris filix-mas* con un valor de 0.50 ppm.

Lin (1991) menciona que existen estándares respecto al grado de contaminación por metales pesados en hortalizas, se analizó hojas y raíces , lo cual denota a hojas con 3.69 ppm y a raíces con 2.58 respecto al elemento Plomo. Tomando en cuenta los valores del **Gráfico 3**, se evidenció un valor de 0.90 ppm en raíces de *Dryopteris filix-mas* ,siendo una cantidad menor respecto a la contaminación de Pb en hortalizas.

#### 4.6 Contaminación sedimento del Estero Salado de muestras iniciales

**Gráfico 4. Contaminación sedimento del Estero Salado de muestras iniciales.**



Elaborado por: (Andrade,2023)

Se examinó la contaminación por 3 metales específicos Arsénico, cadmio y plomo, con el fin de identificar la contaminación de Sedimento del Estero Salado y se observó mayor presencia de plomo, siendo este un contaminante muy perjudicial para la salud.

En relación al **gráfico 4** , se tienen resultados similares donde se evidenciaron en Colombia , donde se examinaron 3 puntos extrategicos de sedimento teniendo valores de Plomo de 10 ppm y un valor de 0.5 ppm ,donde se evidencia que existe mayor concentración de Pb, por ende destaca que países vecinos a Ecuador , en este caso Colombia , presenta contaminación por metales pesados como en Guayaquil.

#### 4.7 Factor de Bioconcentración (FB)

Se calculó el factor de Bioconcentración (FB: función de un compuesto para lograr acumularse en un tejido luego de su absorción en el medio (Marcovechhio y Moreno,1991), empleando la siguiente formula:

$$FB = \frac{CETT \frac{mg}{kg}}{CPES \frac{mg}{l}}$$

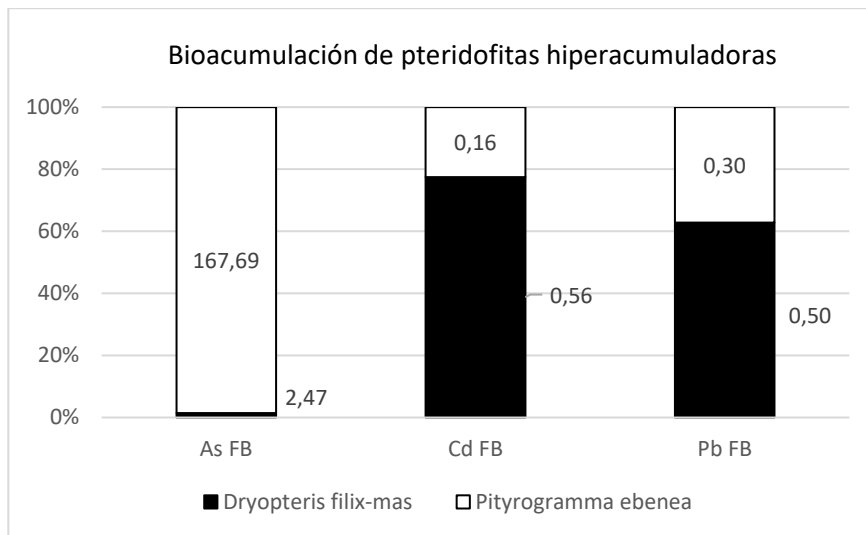
Donde:

CETT: Concentración del elemento traza en el tejido de la planta

CPES: Concentración promedio del elemento en la solución

#### 4.8 Bioacumulación de pteridofitas hiperacumuladoras

**Gráfica 5. Bioacumulación de pteridofitas hiperacumuladoras**



Elaborado por: (Andrade, 2023).

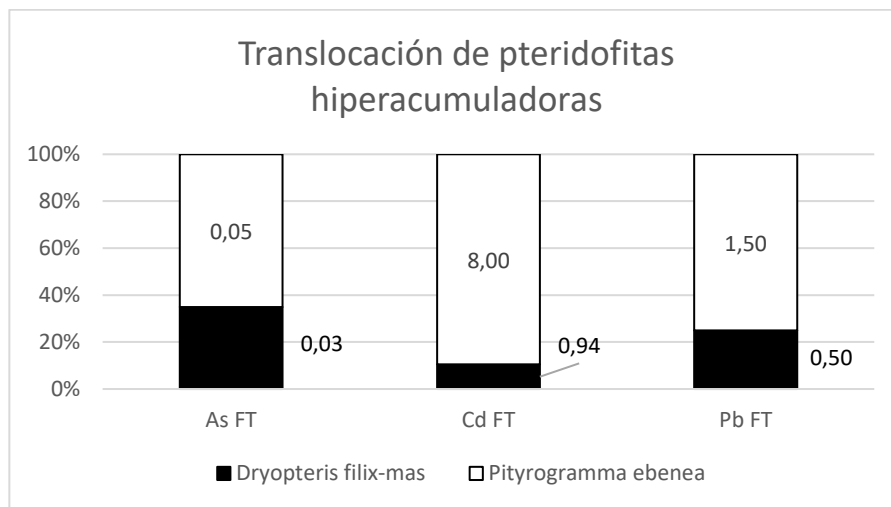
Se observó la bioacumulación del helecho macho y helecho blanco frente a los metales arsénico, cadmio y plomo, se obtuvo mayor concentración de arsénico en las muestras iniciales.

Reyes en 2020 realizó estudios de la bioacumulación de Hg,As ,Cd y Pb en plantas de, zanahoria (*Daucus carota*), hierbabuena (*Mentha spicata*), espinaca (*Spinacia oleracea*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) donde menciona que para establecer si una planta potencialmente hiperacumuladora, se requiere que el Factor de bioacumulación (BCF) tenga un valor mayor a 10, por el contrario, si el BCF es mayor a 1 se considera como acumuladora y en el caso que el BFC se encuentra en un rango por debajo de 1 se define a la planta como exclusiva.

Según los resultados de BCF (%) obtenidos según la Gráfica 5, para especie *Pityrogramma ebenea* se obtuvo un BCF mayor a 10, respectivamente de 167.69 por ende se clasificó como planta hiperacumuladora de arsénico, a diferencia de la especie *Dryopteris filix-mas* que fue clasificada basada en este estudio como planta acumuladora de arsénico.

#### 4.9 Factor de translocación de pteridofitas hiperacumuladoras

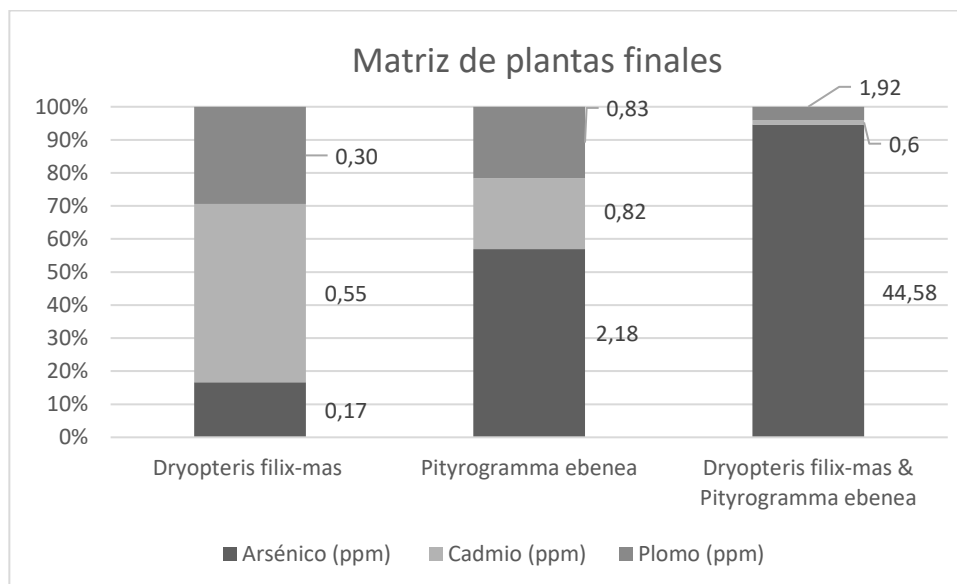
**Gráfico 6. Translocación de pteridofitas hiperacumuladoras**



Elaborado por: (Andrade, 2023)

#### 4.10 Matriz para plantas pteridofitas con tratamiento.

**Gráfico 7. Evaluación final matriz de pteridofitas con tratamiento**



Elaborado por : ( Andrade ,2023)



Se observó mayor concentración de arsénico y cadmio en las muestras con tratamiento del experimento, con lo que se descató la presencia de porcentajes de Bioacumulación en las especies *Dryopteris filix-mas* y *Pityrogramma ebenea*, y se visualizó como estas plantas al trabajar en conjunto presentan mayor rendimiento. **Ver tabla 14.**

#### 4.11 Cambio morfológico de plantas pteridofitas expuestas a As, Cd y Pb

El desarrollo el proyecto se llevó a cabo a partir del 10 de Julio del 2023, con el proceso de plantación y pasado 2 meses las plantas presentan cambio morfológico como se evidencia en la **Figura 10**. Las plantas *Pityrogramma ebenea* y *Dryopteris filix-mas* mostraron perdida de hojas, manchas necróticas en parte superior de las hojas, raíces con pocos nutrientes y falta de vigor en la planta.

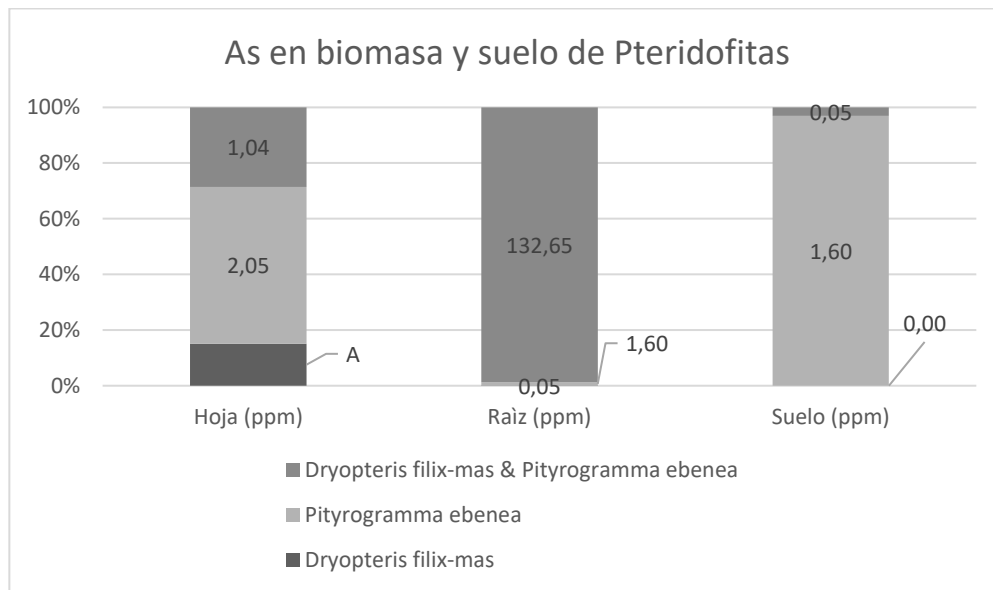
Resultados afines destacan en la investigación realizada por Williams, Pittman & Hall , en 2000 donde mencionan que los efectos fitotóxicos se manifiestan de acuerdo al tipo de metal presente en el medio, tal como , Cd y As con sus niveles de toxicidad y bioacumulación en la planta , alteraciones morfológicas. A su vez denota como el estrés por Cd en plantas produce disminución en el crecimiento y manchas oscuras.



Figura 13. Cambio morfológico de las plantas pteridofitas pasado 2 meses. A, B- Hojas y Raíz de *Pityrogramma ebenea* contaminadas por As, Cd y Pb; C,D- Hojas y raíz de *Dryopteris filix-mas* contaminadas por As,Cd y Pb. Fuente: (Andrade ,2023).

#### 4.12 Matriz para biomasa y suelo de Pteridofitas con tratamiento para As.

Gráfico 8. Arsénico en biomasa y suelo de Pteridofitas.

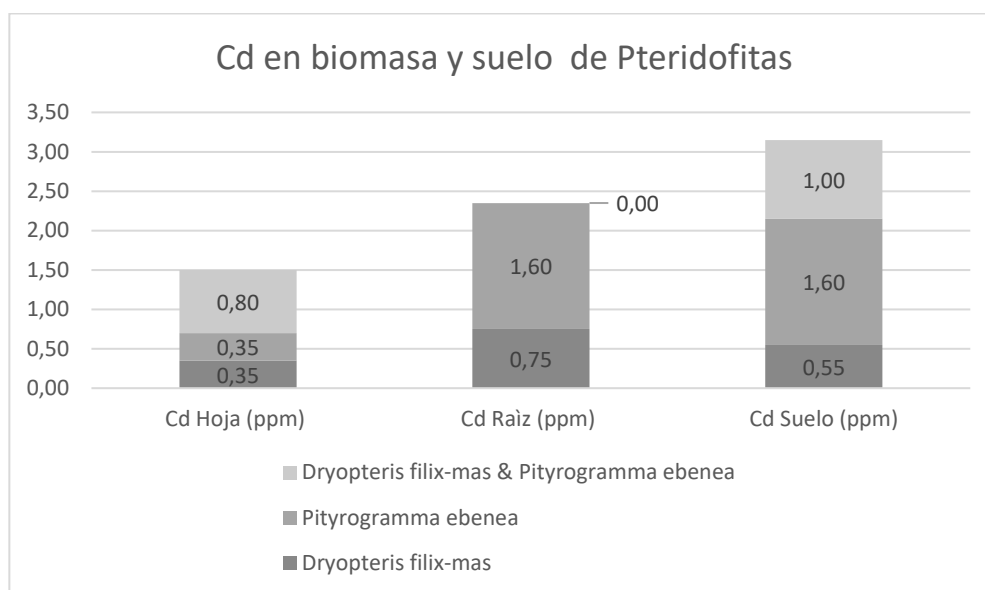


Elaborado por: (Andrade ,2023)

Como destaca en gráfico 8 existe disminución en los niveles de Arsénico presentes en hojas y raíces de las especies *Pityrogramma ebenea* y *Dryopteris filix-mas*, relacionando los valores iniciales de la gráfica 1, es evidente la biorremediación, es decir presenta un 56.2 de ppm en disminución con raíces. Es decir que las plantas pteridofitas seleccionadas, son excelentes candidatas para remediar contaminación en sedimentos de manglar el Estero El Salado.

#### 4.13 Matriz para biomasa y suelo de Pteridofitas con tratamiento para Cd.

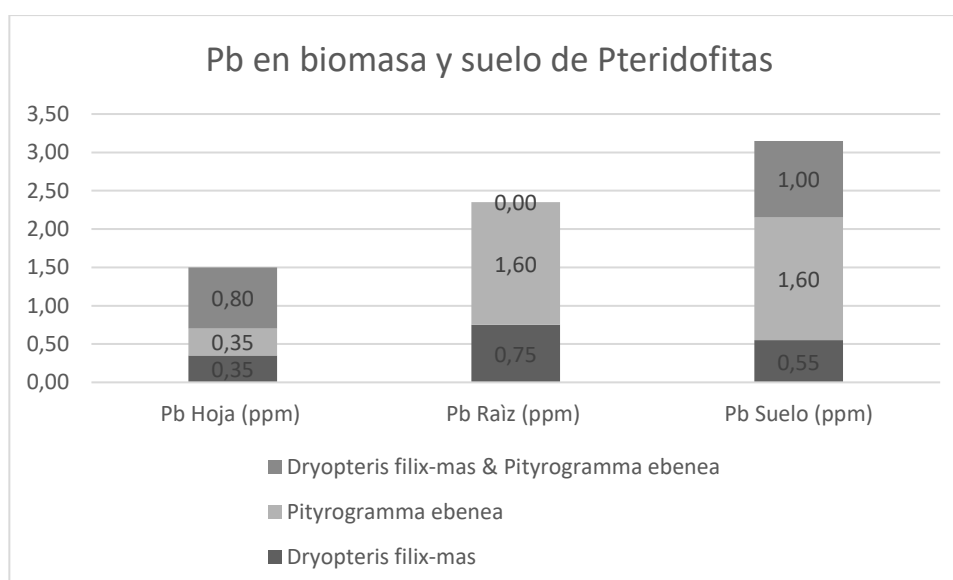
Gráfico 9. Análisis de datos de Cd en biomasa y suelo de Pteridofitas



Para contrarestrar con las muestras iniciales, descritas en el **gráfico 2**, a comparación de las muestras con tratamiento, **ver gráfico 3** se evidencia un incremento mínimo de concentraciones de cadmio presente en el medio.

#### 4.14 Matriz para Biomasa y suelo de Pteridofitas con tratamiento para Pb.

Gráfico 9. Análisis de datos de Cd en biomasa y suelo de Pteridofitas



Elaborado :( Andrade,2023)

En este caso la especie *Dryopteris filix-mas* absorbió más cantidad de plomo, haciendo énfasis en los valores de suelo, índice sin tratamiento de 2.70 ppm ( **Ver gráfico 3** ) y índice con tratamiento 0,55 ppm ( **Ver gráfico 9**), lo que otorga la cualidad al helecho macho como un potencial acumulador de Plomo y con ello ayuda a mejorar la contaminación del ecosistema de Manglar el Salado.

#### 4.15 Interpretación estadística de datos

Todos los resultados del análisis del espectrofotómetro y muestras biológicas fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA), por tanto, mediante la Prueba de T- Student se evaluó la remoción de As, Cd y Pb, a partir de 2 especies de plantas pteridofitas.

Las cuales prometen ser una solución para la contaminación en los sedimentos del Estero Salado de la ciudad de Guayaquil.

Nueva tabla\_2 : 1/9/2023 - 17:00:58 - [Version : 30/4/2020]

##### Medidas resumen

ESPECIE	Tratamientos	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	CV	Min	Máx	Suma	Cuad.	Kurtosis
Dryopteris filix-mas	25%	FB As	1	0,00	0,00	0,00	sd	0,00	0,00	0,00		sd
Dryopteris filix-mas	25%	FB Cd	1	0,14	0,00	0,00	0,00	0,14	0,14	0,02		sd
Dryopteris filix-mas	25%	FB Pb	1	0,00	0,00	0,00	sd	0,00	0,00	0,00		sd
Dryopteris filix-mas & Pit..	100%	FB As	2	112,78	159,49	112,78	141,42	0,00	225,55	50872,80		sd
Dryopteris filix-mas & Pit..	100%	FB Cd	2	0,83	0,25	0,18	30,00	0,65	1,00	1,42		sd
Dryopteris filix-mas & Pit..	100%	FB Pb	2	0,07	0,06	0,04	80,81	0,03	0,11	0,01		sd
Pityrogramma ebenea	50%	FB As	2	2,13	3,01	2,13	141,42	0,00	4,26	18,15		sd
Pityrogramma ebenea	50%	FB Cd	2	2,25	0,35	0,25	15,71	2,00	2,50	10,25		sd
Pityrogramma ebenea	50%	FB Pb	2	0,86	0,67	0,48	78,57	0,38	1,33	1,91		sd

Figura 14. Tabla de matrices valores iniciales del experimento. Elaborado por: (Andrade, 2023).

Nueva tabla\_2 : 1/9/2023 - 17:09:24 - [Versión : 30/4/2020]

Análisis de la varianza

ESPECIE = :Dryopteris filix-mas (No hay datos disponibles)

FB As

ESPECIE	Variable N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Dryopteris filix-mas & Pit..	FB As	2 0,00	0,00	141,42

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,00	0	0,00	0,00	>0,9999
Tratamientos	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	25436,40	1	25436,40		
Total	25436,40	1			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000

Error: 25436,4013 gl: 1

Tratamientos Medias n E.E.

100% 112,78 2 112,78 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

FB Cd

ESPECIE	Variable N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Dryopteris filix-mas & Pit..	FB Cd	2 0,00	0,00	30,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,00	0	0,00	0,00	>0,9999
Tratamientos	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,06	1	0,06		
Total	0,06	1			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000

Error: 0,0612 gl: 1

Tratamientos Medias n E.E.

100% 0,83 2 0,18 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

A

FB Cd

ESPECIE	Variable N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Dryopteris filix-mas & Pit..	FB Cd	2 0,00	0,00	30,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,00	0	0,00	0,00	>0,9999
Tratamientos	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,06	1	0,06		
Total	0,06	1			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000

Error: 0,0612 gl: 1

Tratamientos Medias n E.E.

100% 0,83 2 0,18 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

FB Pb

ESPECIE	Variable N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Dryopteris filix-mas & Pit..	FB Pb	2 0,00	0,00	80,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,00	0	0,00	0,00	>0,9999
Tratamientos	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	3,2E-03	1	3,2E-03		
Total	3,2E-03	1			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00000

Error: 0,0032 gl: 1

Tratamientos Medias n E.E.

100% 0,07 2 0,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

B

Figura 15. A- Tabla análisis de varianza de As y Cd. B- Tabla análisis de varianza de Pb. Elaborado: (Andrade, 2023).

## 4.16 Curvas de Calibración ICP-OES

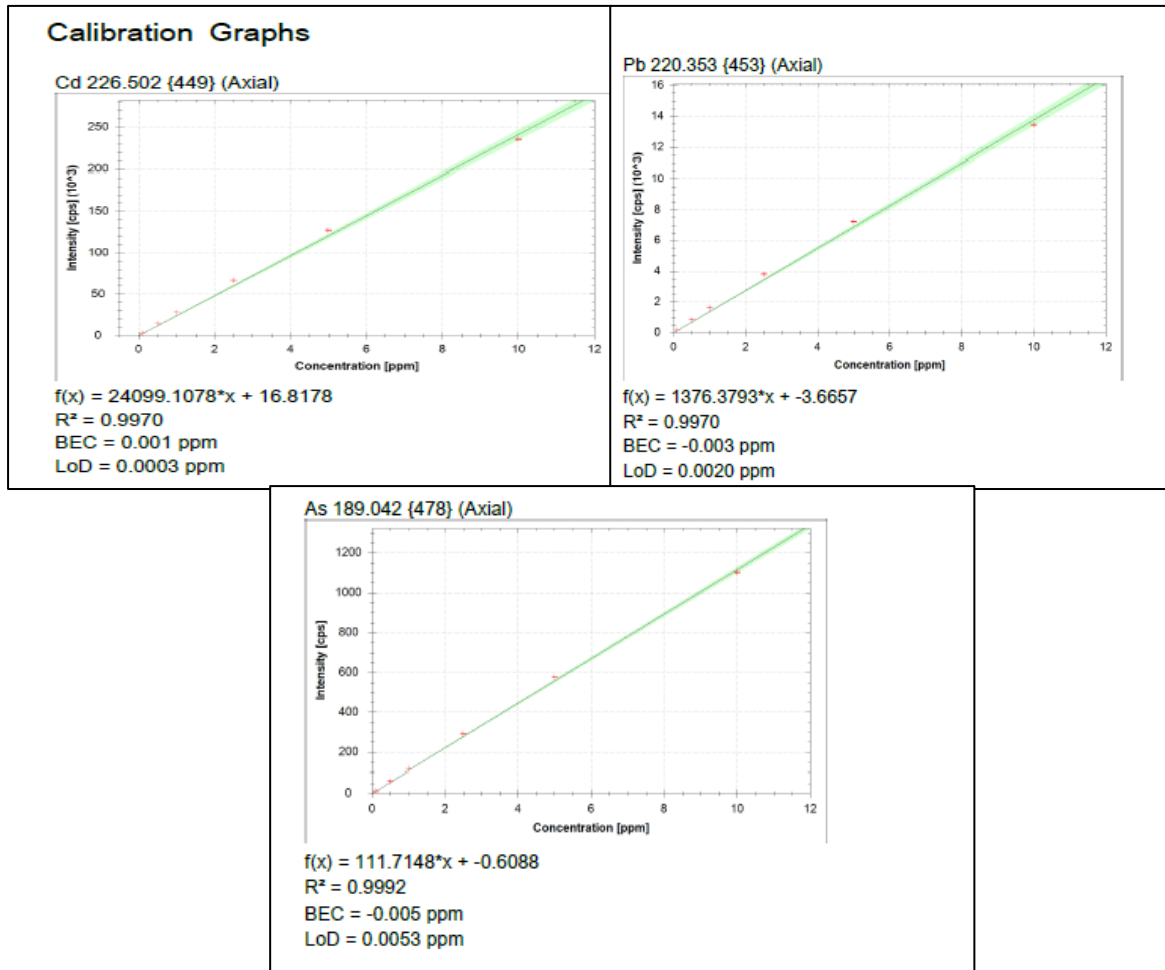


Figura 16. Curva de Calibración de Cadmio, Pb y As Elaborado por: (Andrade, 2023). Fuente: ICP- OES

Con respecto a las **figuras 11** se evaluó 3 elementos importantes arsénico, cadmio y plomo, se observó valores altos en arsénico en muestras de hojas, raíces y suelo del experimento según un LOD (Límite de determinación) según la normativa EPA. Lo que resultó como un valor referencial para afirmar que las plantas *Dryopteris filix-mas* y *Pityrogramma ebenea* son especies bioacumuladores de metales pesados.

## Capítulo 5

### 5. Conclusiones y recomendaciones

#### 5.1 Conclusiones

- La disminución del contenido de metales en el medio y metales pesados en las plantas pteridofitas seleccionadas demostró que *Dryopteris filix-mas* y *Pityrogramma ebenea* absorbe mayor cantidad de arsénico a diferencia del cadmio y plomo .
- *Dryopteris filix-mas* mostró mayor concentración de arsénico en las hojas a diferencia de las raíces.
- *Pityrogramma ebenea* mostró mayor capacidad de bioacumulación de arsenico , plomo y cadmio a diferencia de otras especies de helechos.
- Los tratamientos 16 y 17, al 100% (*Dryopteris filix-mas* y *Pityrogramma ebenea*) mostraron mayor rendimiento de bioacumulación de As, es decir ambos son tratamientos más adecuados para aplicar en función a la fitorremediación de sedimento de manglar El Salado Guayaquil- Ecuador.

#### 5.2 Recomendaciones

- Por lo anterior, se recomienda realizar más estudios calidad del suelo, intensidad lumínica en los procesos de bioacumulación de metales propios de las plantas pteridofitas y especies afines.
- Se recomienda llevar una bitácora para anotar el crecimiento de brotes, cantidad de hojas y evolución de los helechos. Por otro lado, tomar en cuenta frecuencia del riego de las especies, ya que depende de las condiciones climática.



### 5.3 Referencias:

Guido Poveda Burgos y Pedro Avilés Almeida (2018): “Situación de los manglares de la ciudad de Guayaquil - provincia del Guayas - Ecuador”, Revista DELOS Desarrollo Local Sostenible n. 31(febrero 2018). En línea: <https://www.eumed.net/rev/delos/31/guido-poveda3.html//hdl.handle.net/20.500.11763/delos31guido-poveda3>

Borja-Serrano, P., Ochoa-Herrera, V., Maurice, L., Morales, G., Quilumbaqui, C., Tejera, E., y Machado, A. (2020). Determination of the Microbial and Chemical Loads in Rivers from the Quito Capital Province of Ecuador (Pichincha)-A Preliminary Analysis of Microbial and Chemical Quality of the Main Rivers. *International journal of environmental research and public health*, 17(14), 5048. <https://doi.org/10.3390/ijerph17145048>

Ballesteros, J. (2011). Determinación de la eficacia de Azola carolinia como matriz de hiperacumulación de metales pesados cuantificados. Quito: UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA.

Williams, L. E., Pittman, J. K., & Hall, J. L. (2000). Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica et biophysica acta*, 1465(1-2), 104–126. [https://doi.org/10.1016/s0005-2736\(00\)00133-4](https://doi.org/10.1016/s0005-2736(00)00133-4)

Sistema Nacional de Areas Protegidas del Ecuador. (2014). Reserva de produccion de fauna, Manglares El Salado. Retrieved from Sistema Nacional de Areas

Protegidas

del

Ecuador:

[http://areasprotegidas.ambiente.gob.ec/sites/default/files/GUIA\\_PARQUES\\_17-2014\\_0.pdf](http://areasprotegidas.ambiente.gob.ec/sites/default/files/GUIA_PARQUES_17-2014_0.pdf)

Potera, Carol. (2010). El gen que está detrás de la hiperacumulación de arsénico. *Salud Pública de México*, 52(6), 575-576. Recuperado en 08 de septiembre de 2023, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342010000600013&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342010000600013&lng=es&tlng=es).

Zhang, F., Huo, Y., Cobb, A. B., Luo, G., Zhou, J., Yang, G., ... & Zhang, Y. (2018). Trichoderma biofertilizer links to altered soil chemistry, altered microbial communities, and improved grassland biomass. *Frontiers in Microbiology*, 9, 848. Estraído de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5937142/>

Delgadillo-López, Angélica Evelin, González-Ramírez, César Abelardo, Prieto-García, Francisco, Villagómez-Ibarra, José Roberto, & Acevedo-Sandoval, Otilio. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(2), 597-612. Recuperado en 19 de mayo de 2023, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-04622011000200002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-04622011000200002&lng=es&tlng=es).

Praveen, A., y Pandey, V. C. (2020). Pteridophytes in phytoremediation. *Environmental geochemistry and health*, 42(8), 2399–2411. <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00425-0>

Bothe, H., y Słomka, A. (2017). Divergent biology of facultative heavy metal plants. *Journal of plant physiology*, 219, 45–61. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.08.014>

Carrasco, L. J. A., Pariente, E., y Pino, M. E. M. (2021). Metodología de muestreo de suelos con fines de análisis químico para la detección de metales pesados. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 5(2), 77-83.

Chen, J., Shiyab, S., Han, F. X., Monts, D. L., Waggoner, C. A., Yang, Z., y Su, Y. (2009). Bioaccumulation and physiological effects of mercury in *Pteris vittata* and *Nephrolepis exaltata*. *Ecotoxicology (London, England)*, 18(1), 110–121. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0264-3>.

Cheng, P., Zhang, S., Wang, Q., Feng, X., Zhang, S., Sun, Y., y Wang, F. (2021). Contribution of Nano-Zero-Valent Iron and Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soil. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 11(5), 1264. <https://doi.org/10.3390/nano11051264>

De Oliveira, L. M., Suchismita, D., Gress, J., Rathinasabapathi, B., Chen, Y., y Ma, L. Q. (2017). Arsenic uptake by lettuce from As-contaminated soil remediated with

*Pteris vittata* and organic amendment. *Chemosphere*, 176, 249–254.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.124>

Du, F., Yang, Z., Liu, P., y Wang, L. (2018). Accumulation, translocation, and assessment of heavy metals in the soil-rice systems near a mine-impacted region. *Environmental science and pollution research international*, 25(32), 32221–32230.

<https://doi.org/10.1007/s11356-018-3184-7>

Pablo Parra, Juan, & Fernanda Espinosa, Luisa. (2008). DISTRIBUCIÓN DE METALES PESADOS (Pb, Cd Y Zn) EN PERFILES DE SEDIMENTO ASOCIADO A RHIZOPHORA MANGLE EN EL RÍO SEVILLA - CIÉNAGA GRANDE DE SANTA MARTA, COLOMBIA. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR*, 37(1), 95-110. Retrieved September 10, 2023, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-97612008000100006&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-97612008000100006&lng=en&tlng=es).

Rahman, F., Sugawara, K., Wei, S., Kohda, Y. H., Chien, M. F., y Inoue, C. (2021). Influence of low temperature on comparative arsenic accumulation and release by three *Pteris* hyperaccumulators. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering*, 56(11), 1179–1188.

<https://doi.org/10.1080/10934529.2021.1970443>

Muyulema-Allaica, J.C., Canga-Castillo, S.M., Pucha-Medina, P.M., & Espinosa-Ruiz, C.G.. (2019). Evaluación de la contaminación por metales pesados en suelos de la Reserva Ecológica de Manglares Cayapas Mataje (REMACAM)-Ecuador.

*RIIT. Revista internacional de investigación e innovación tecnológica*, 7(41), 40-61. Epub 05 de febrero de 2021. Recuperado en 25 de mayo de 2023, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-97532019000600003&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-97532019000600003&lng=es&tlng=es).

Vardanyan, L.G., Ingole, B.S. 2006. Studies on heavy metal accumulation in aquatic macrophytes from Sevan (Armenia) and Carambolim (India) lake systems. *International*. 32:208-218.

Roy, S., Labelle, S., Mehta, P., Mihoc, A., Fortin, N., Masson, C., Leblan, R., Cha, G., Sura, C., Gallipeau, C., Olsen, C., Delisle, S., Labrecque, M., Greer, C. W. 2005. Phytoremediation of heavy metal and PAH-contaminated brownfield sites. *Plant and Soil*. 272: 277-290.

Navarro-Aviñó, J. P., Aguilar- Alonso, I., López-Moya, J. R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*. 16: 10-25.

Bafor, E. E., Omokaro, W. O., Uwumarongie, O. H., Elvis-Offiah, U., Omoruyi, O., Viegelmann, C. V., & Edrada-Ebel, R. (2017). *Dryopteris filix-mas* (Dryopteridaceae) leaves inhibit mouse uterine activity. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*, 1(1)<https://doi.org/10.4102/jomped.v1i1.25>

Morel, J., Echevarria, G., & Goncharova, N. (Eds.). (2006). *Phytoremediation of metal-contaminated soils*. Springer Netherlands

Bolan N, Kunhikrishnan A, Thangarajan R, Kumpiene J, Park J, Makino T, Kirkham M and Scheckel K. (2014). Remediation of heavy metal (loid)s contaminated soils-to mobilize or to immobilize. *Journal of Hazardous Material*, 266: 141-166. 11 Borker A, Mane A, Saratale G, Pathade G.

Earnest, O. E., & Iloigwe, E. E. (2019). Sub-chronic toxicity evaluation of *Dryopteris filix-mas* (L.) schott, leaf extract in albino rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55 <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000118107>

<https://www.google.com/maps/place/2%C2%B007'04.7%22S+79%C2%B028'38.1%22W/@-2.1179741,-79.4998876,14z/data=!4m4!3m3!8m2!3d-2.1179795!4d-79.4772497?hl=es&entry=ttu>

<https://earth.google.com/web/search/Ecuador,+Guayaquil/@-2.16283521,-79.90279008,6.90708595a,12650.77577374d,35y,0h,0t,0r/data=CigiJgokCSO2tMAHNQHAESQItfwOPAHAGSasjK83-VPAIWDNDamy-VPA.>

Reyes, Y. (2020). *Estudio de bioacumulación de metales pesados en plantas de consumo humano para sensado molecular In situ*. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana.

Santana, M. (2020). *EVALUACIÓN DEL RIESGO DE CONTAMINACIÓN POR*. Ecuador: Universidad de Guayaquil.

Fisher, T. (2021). Sample preparation techniques for AAS, ICP-OES and ICP-MS for regulated testing laboratories.

Lin, H.T. (1991). A Study on the Establishment of Heavy Metal Tolerance in Soil through the Heavy Metal concentration of crop. Unpub. M.Sc. Thesis., National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan.

OPS. (2022). Organización mundial de la salud. Obtenido de <https://www.paho.org/es/temas/plomo#:~:text=El%20plomo%20es%20una%20sustancia,los%20ri%C3%B1ones%20y%20los%20huesos.>

## Anexos Tablas

**Tabla 4. Peso de las muestras de plantas y de suelo.**

Numeración	Muestras	Gramos (g)
1	M.C 100% 1	5,09
2	M.C 100% Duplicado	5,05
3	M.C 50% 1	5,02
4	M.C 50% Duplicado	5,04
5	M.C 25% 1	5,02
6	M.C 25% Duplicado	5,05
7	M.C Muestra de Milagro Suelo	5,00
8	M.C Muestra de Milagro Suelo	5,05
9	Muestra Raíces Helecho Blanco	8,44
10	Muestra Raíces Helecho Blanco Duplicado	6,07
11	Muestra Raíces Helecho Macho	5,85
12	Muestra Raíces Helecho Macho Duplicado	16,11
13	Muestra Hojas Helechos Blanco	5,00
14	Muestra Hojas Helechos Blanco Duplicado	15,00
15	Muestra hojas Helechos Macho	5,03
16	Muestra Hojas Macho Duplicado	5,04

Elaborado por: (Andrade,2023).



Tabla 5. Peso de las muestras de plantas y de suelo (Molienda)

Modelo		
N°	Descripción	Gramos (g)
1	Muestra de Helecho Macho Hojas	0,50
2	Muestra Duplicado de Helecho Macho Hojas	0,50
3	Muestra Helecho Blanco hojas	0,50
4	Muestra Duplicado de Helecho Blanco Hojas	0,50
5	Raíces Helechos Macho	0,50
6	Raíces Duplicados Helecho Macho	0,50
7	Raíces Helecho Blanco	0,50
8	Raíces Duplicados Helecho Blanco	0,50
9	Muestra Sustrato 25%	0,50
10	Muestra Sustrato 25% Control	0,50
11	Muestra Sustrato 50%	0,50
12	Muestra Sustrato 50% Control	0,50
13	Muestra Sedimento 100%	0,50
14	Muestra Sedimento 100%	0,50
15	Muestra Suelo Milagro	0,50
16	Muestra Suelo Milagro Duplicado	0,50

Elaborado por : (Andrade, 2023).

Tabla 7. Peso de las muestras de plantas (Proceso de Digestión).

Fecha 20/07/2023		
Modelo		
N°	Descripción	Gramos (g)
1	Raíces helecho macho	0,50
2	Duplicado raíces helecho macho	0,50
3	Raíces helecho blanco	0,50
4	Duplicado de Raíces Helecho Blanco	0,50
5	Hojas Helecho Blanco	0,50

6	Duplicado Hojas Helecho Blanco	0,50
7	Hojas Helecho Macho	0,50
8	Duplicado Helecho Macho hojas	0,50

Elaborado por: (Andrade, 2023).

**Tabla 8. Peso de las muestras de suelo (Proceso de Digestión)**

Fecha 25/07/2023		
Modelo		
N°	Descripción	Gramos (g)
1	Muestras de Suelo Milagro	0,50
2	Muestras Suelo Milagro Duplicado	0,50
3	Sedimento 100%	0,50
4	Sedimento 100% Duplicado	0,50
5	Sedimento 50%	0,50
6	Sedimento 50% Duplicado	0,50
7	Sedimento 25%	0,50
8	Sedimento 25% Duplicado	0,50

Elaborado por: (Andrade, 2023).

**Tabla 10. Tabla de tratamientos de plantas pteridofitas – Diseño experimental**

<i>Tratamientos</i>	<i>Especies</i>	<i>Densidad de plantas (U)</i>	<i>Sustrato tratado con materia orgánica.(%)</i>
1	<i>Dfm</i>	2	25
2	<i>Dfm</i>	4	50
3	<i>Dfm</i>	8	100
4	<i>Dfm</i>	10	25
5	<i>Dfm</i>	12	50

6	<i>Dfm</i>	14	100
7	<i>Peb</i>	2	25
8	<i>Peb</i>	4	50
9	<i>Peb</i>	8	100
10	<i>Peb</i>	10	25
11	<i>Peb</i>	12	50
12	<i>Peb</i>	14	100
13	<i>Dfm x Peb</i>	2	25
14	<i>Dfm x Peb</i>	4	50
15	<i>Dfm x Peb</i>	8	100
16	<i>Dfm x Peb</i>	10	25
17	<i>Dfm x Peb</i>	12	50
18	<i>Dfm x Peb</i>	14	100
19	<i>Control Sedimento</i>	-	-
20	<i>Control de M.O.</i>	-	-
<i>Dfm= , Peb= , x= Interacción entre las 2 especies , U= unidad, M.O.= Materia orgánica</i>			

**Tabla 13 Valores del crecimiento de brotes en los tratamientos**

<b>Nombre</b>	<b>Brote Amarillo (cm)</b>	<b>Brote Verde (cm)</b>	<b>Brote Blanco (cm)</b>	<b>Brote rojo (cm)</b>	<b>Brote Azul (cm)</b>	<b>Brotos nuevos</b>
T1 :25%	15	19	18,5	13,5	12	4

T2 : 50%	9	-	8		-	0
T3:100%	-	-	7	-	-	0
T4:25%	18	-	20	25	-	2
T5:50%	15	11	-	19,5	10	3
T6:100%	-	-	-	-	-	2
T7: 25%	-	-	-	-	-	1
T8:50%	11	14	-	19	-	1
T9:100%	-	-	-	16	11	1
T10:25%	-	-	-	-	-	-
T11:50%	10	8	7	-	-	1
T12:100%	35	10	16	-	-	1
T13:25%	-	-	-	-	10	1
T14:50%	-	-	-	-	-	5
T15:100%	-	-	-	-	12	1
T16:25%	22	19	10	21,5	29	3
T17:50%	13	14	-	-	15	2
T18: 100%	-	-	-	-	-	2

Elaborado: (Andrade, 2023)

**Tabla 14. Matriz de plantas con tratamiento**

<b>Especie</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Arsénico (ppm)</b>	<b>Cadmio (ppm)</b>	<b>Plomo (ppm)</b>
<i>Dryopteris filix-mas</i>	25%	0,17 ± 0,17	0,55 ± 0,22	0,30 ± 0,28
<i>Pityrogramma ebenea</i>	50%	2,18± 1,22	0,82 ± 0,10	0,83 ± 0,38
<i>Dryopteris filix-mas &amp; Pityrogramma ebenea</i>	100%	44,58 ± 27,85	0,60 ± 0,20	1,92 ± 1,36

Elaborado por: (Andrade,2023)