



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE *AZOLLA SP* EN AGUAS  
CONTAMINADAS CON CADMIO Y SEMBRADAS CON SEMILLAS DE  
ARROZ

LIGUA CABRERA ANGIE GARLETH  
INGENIERA QUÍMICA

VINCES MONTERO MARIA JOSE  
INGENIERA QUÍMICA

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Capacidad de adsorción de *Azolla sp* en aguas contaminadas con cadmio y sembradas con semillas de arroz

LIGUA CABRERA ANGIE GARLETH  
INGENIERA QUÍMICA

VINCES MONTERO MARIA JOSE  
INGENIERA QUÍMICA

MACHALA  
2022



# UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

TRABAJO TITULACIÓN  
TRABAJO EXPERIMENTAL

Capacidad de adsorción de *Azolla sp* en aguas contaminadas con cadmio y sembradas  
con semillas de arroz

LIGUA CABRERA ANGIE GARLETH  
INGENIERA QUÍMICA

VINCES MONTERO MARIA JOSE  
INGENIERA QUÍMICA

RIVERA INTRIAGO LEONOR MARGARITA

MACHALA, 22 DE SEPTIEMBRE DE 2022

MACHALA  
2022

# CAPACIDAD DE ADSORCIÓN DE AZOLLA SP EN AGUAS CONTAMINADAS CON CADMIO Y SEMBRADAS CON SEMILLAS DE ARROZ

---

## INFORME DE ORIGINALIDAD

---

0%

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

---

## FUENTES PRIMARIAS

---

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1401 words

Excluir bibliografía

Apagado

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Las que suscriben, LIGUA CABRERA ANGIE GARLETH y VINCES MONTERO MARIA JOSE, en calidad de autoras del siguiente trabajo escrito titulado Capacidad de adsorción de *Azolla sp* en aguas contaminadas con cadmio y sembradas con semillas de arroz, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Las autoras declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Las autoras como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 22 de septiembre de 2022



LIGUA CABRERA ANGIE GARLETH  
0707030664



VINCES MONTERO MARIA JOSE  
0706054814

## AGRADECIMIENTO

*Quiero expresar mi gratitud a Dios por bendecirme la vida, por guiarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad. Gracias a mis padres por ser los principales promotores de mi sueño, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores, principios que me han inculcado y haberme apoyado incondicionalmente, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron. De manera especial agradezco a mi tutora de tesis Ing. Leonor Rivera Intriago, quien con su experiencia, conocimiento, enseñanzas y motivación me orientó en la elaboración de este trabajo de titulación. También me gustaría agradecer al Ing. Quím. Byron Lapo por su orientación profesional y por brindarme todos los recursos y herramientas que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de investigación, y al Ing. Agrónomo Irán Rodríguez Delgado por su ayuda en la realización del diseño experimental y del análisis de datos estadísticos, no hubiese podido arribar a estos resultados de no haber sido por su incondicional y valiosa ayuda.*

*María José Vincés Montero*

*Quiero agradecer el presente trabajo a mis padres quienes estuvieron presente en todo momento a lo largo de mi vida y carrera universitaria, por confiar y creer en mí, a mis hermanos, especialmente a mi hermano mayor que con su esfuerzo y dedicación siempre me dio fuerzas para continuar y no decaer. Espero algún día ser yo quien pueda ser su fuerza para que puedan seguir avanzando en su camino. A mis mejores amigos por estar conmigo y me brindaron su apoyo cuando las cosas parecían ser complicadas e imposibles. También agradezco a mi tutora de tesis, Ing. Leonor Rivera quien con su gran conocimiento, experiencia y amabilidad nos apoyó, aconsejó y corrigió en este trabajo de titulación. De igual forma, agradezco al Ing. Quím. Byron Lapo e Ing. Agrónomo. Irán Delgado por compartir sus conocimientos y apoyarnos en este trabajo investigativo para nuestra formación profesional.*

*Angie Garleth Ligua Cabrera*

## DEDICATORIA

*El presente trabajo va dedicado a mis padres, Patricia Cabrera y Henry Ligua por ser grandes personas, quienes me dieron la vida y la valentía para cumplir esta gran meta de formación profesional. A mis hermanos, Elton, Melanie y John por su gran apoyo incondicional en mi vida. A mi abuelita que descansa en paz, quien siempre me enseñó su bondad y sabiduría en la vida. A mis mejores amigos con los que pude contar infinidad de veces en mi vida y carrera. A la banda más grande del momento, BTS, quienes estuvieron presentes para mí ayudándome en mi salud emocional además que me motivaron con sus palabras y canciones a no rendirme, luchar por lo que más anhelo y ser fiel a mí mismo.*

*Angie Garleth Ligua Cabrera*

*El presente trabajo investigativo lo dedico principalmente a Dios, por ser el inspirador y darme fuerza para continuar en este duro proceso de obtener uno de los anhelos más deseados. A mi padre; por su amor, trabajo, sacrificio, por siempre desear y anhelar lo mejor para mi vida y quién me enseñó que el mejor conocimiento que se puede tener es el que se aprende por sí mismo. También está dedicado a mi madre, por su paciencia, esfuerzo, consejos y por estar dispuesta a acompañarme cada larga y agotadora noche de estudio, agotadoras noches en las que su compañía y la llegada de sus cafés era para mí como agua en el desierto. Ha sido el orgullo y el privilegio de ser su hija, son los mejores padres.*

*María José Vincés Montero*

## RESUMEN

Actualmente la contaminación por metales pesados en suelo y agua tienden a ser uno de los problemas principales debido a diversas actividades antropogénicas que afectan a la salud de la población, a los sectores agrícolas y a la economía. Puesto que no consiguen degradarse pero si logran lixiviarse. Uno de los metales pesados que se consideran con mayor toxicidad hacia los seres humanos y el ecosistema es el cadmio que es capaz de filtrarse por los suelos y agua llegando a ser adsorbidos por plantas, cultivos, animales que en consecuencia provoca afectaciones a la salud y a los organismos por la ingesta de alimentos y el consumo de agua contaminada.

Existen diversos procesos para la remoción de los metales pesados entre ellos se encuentran el intercambio iónico, flotación, adsorción, filtración por membrana, fitorremediación, etc. Una de las tecnologías más amigable con el planeta se denomina fitorremediación que consiste en remover el metal empleando especies acuáticas convirtiéndolo en un proceso amigable con el medio ambiente, económico, sostenible. La Azolla es una especie acuática fitorremediadora que es de fácil desarrollo, crece en ambientes cálidos, posee múltiples usos como la producción de biocombustible, agricultura y en alimentos, además es capaz de tolerar altas concentraciones de estrés.

La presente investigación tiene como objetivo principal evaluar la capacidad de adsorción de *Azolla* sp en aguas contaminadas con cadmio y sembradas con semillas de arroz para conocer la capacidad fitorremediadora del helecho acuático. Se llevó a cabo cuatro tratamientos con tres replicas en bandejas plásticas (12 unidades experimentales) por 72 horas a las mismas condiciones al cual se le aplicó un diseño completamente al azar 4 x 3, luego fueron procesadas en un esterilizador por 48 horas para luego ser trituradas y almacenadas en fundas ziploc para el proceso de digestión. Dicho proceso se llevó a cabo en planchas calentadoras dentro de la campana extractora de gases, a las muestras se agregó 10 ml de ácido nítrico al 70% para posteriormente ser filtrada, envasadas en tubos de centrifuga polipropileno y etiquetadas para su análisis químico.

El tipo de investigación se dio de carácter comparativo, descriptivo y experimental donde se logró identificar las diferencias y semejanzas entre los tratamientos. Se utilizó el método ICP EOS para analizar las concentraciones ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) convirtiéndolas en  $\text{mg.kg}^{-1}$ , para realizar el análisis estadístico se empleó el Software SPSS en el que se comparó mediante el ANOVA, prueba de Duncan y muestras independientes.

El análisis estadístico de la adsorción del cadmio en la Azolla se realizó mediante un test de muestra independiente que consistió en comparar la asociación Azolla (T1) y Azolla-arroz (T3), el cual indicó que no existía diferencia significativa, debido a que en los dos tratamientos se obtuvo valores de la media semejantes, por lo que se estableció que la Azolla adsorbe cantidades similares aun cuando se encuentra en presencia de otro organismo.

Para la determinación de la adsorción del cadmio en el arroz se aplicó el mismo test de muestra independiente, comparando el T2 (arroz) y T3 (Azolla - arroz), demostrando que sí existía una diferencia significativa, siendo en el T3 (Azolla-arroz) el que presenta menor capacidad de adsorción del arroz debido a que el helecho acuático se encontró en conjunto con él, ya que adsorbió en su mayoría al metal.

La evaluación de adsorción del cadmio entre la Azolla y el arroz se realizó mediante un test paramétrico de varianzas (ANOVA) y prueba de Duncan, las mismas que indican que al menos uno de los tratamientos tiene una diferencia significativa. Demostrando en la figura 6 que sí existe diferencia significativa entre el tratamiento de la asociación Azolla-arroz (T3) (a) en comparación con los demás, esto se debe a que la Azolla adsorbe la mayor concentración del metal en comparación con el arroz que se encuentra asociado, logrando así que su uso la vuelva fitorremediadora cuando se encuentra en conjunto con el arroz.

**Palabras claves:** Cadmio, Azolla, arroz, fitorremediación, adsorción.

## **ABSTRACT**

Currently, heavy metal contamination in soil and water tends to be one of the main problems due to various anthropogenic activities that affect the health of the population, the agricultural sectors and the economy. Since they fail to degrade but manage to leach. One of the heavy metals considered to be the most toxic to humans and the ecosystem is cadmium, which is capable of leaching through soils and water, becoming adsorbed by plants, crops and animals and consequently affecting health and organisms through the ingestion of food and the consumption of contaminated water.

There are several processes for the removal of heavy metals, among them are ion exchange, flotation, adsorption, membrane filtration, phytoremediation, etc. One of the most environmentally friendly technologies is called phytoremediation, which consists of removing the metal using aquatic species, making it an environmentally friendly, economical and sustainable process. *Azolla* is an aquatic phytoremediation species that is easy to develop, grows in warm environments, has multiple uses such as biofuel production, agriculture and food, and is able to tolerate high stress concentrations.

The main objective of this research is to evaluate the adsorption capacity of *Azolla* sp in water contaminated with cadmium and sown with rice seeds in order to know the phytoremediation capacity of the aquatic fern. Four treatments were carried out with three replicates in plastic trays (12 experimental units) for 72 hours at the same conditions to which a completely randomized 4 x 3 design was applied, then they were processed in a sterilizer for 48 hours to be crushed and stored in zip lock bags for the digestion process. This process was carried out on heating plates inside the fume hood, 10 ml of 70% nitric acid was added to the samples, which were then filtered, packed in polypropylene centrifuge tubes and labeled for chemical analysis.

The type of research was comparative, descriptive and experimental, where the differences and similarities between the treatments were identified. The ICP EOS method was used to analyze the concentrations (mg.L<sup>-1</sup>), converting them into mg.kg<sup>-1</sup>. For the statistical analysis, SPSS software was used to compare by means of ANOVA, Duncan's test and independent samples.

The statistical analysis of cadmium adsorption in Azolla was carried out by means of an independent sample test that consisted of comparing the association Azolla (T1) and Azolla-rice (T3), which indicated that there was no significant difference, because in the two treatments similar mean values were obtained, so it was established that Azolla adsorbs similar amounts even when it is in the presence of another organism.

For the determination of cadmium adsorption on rice, the same independent sample test was applied, comparing T2 (rice) and T3 (Azolla - rice), showing that there was a significant difference, being T3 (Azolla - rice) the one with the lowest adsorption capacity of rice due to the fact that the aquatic fern was found together with it, since it adsorbed most of the metal.

The evaluation of cadmium adsorption between Azolla and rice was carried out by means of a parametric test of variances (ANOVA) and Duncan's test, which indicate that at least one of the treatments has a significant difference. Figure 6 shows that there is a significant difference between the Azolla-rice association treatments (T3) (a) in comparison with the others, this is due to the fact that Azolla adsorbs the highest concentration of the metal in comparison with the rice that is associated, thus making it a phytoremediator when it is used together with rice.

**Keywords:** Cadmium, Azolla, rice, phytoremediation, adsorption.

## ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTO .....	I
DEDICATORIA .....	II
RESUMEN .....	III
ABSTRACT.....	V
INTRODUCCIÓN .....	12
OBJETIVOS .....	15
Objetivo General .....	15
Objetivos Específicos.....	15
CAPÍTULO I .....	16
1    MARCO TEÓRICO .....	16
1.1    Contaminación del Agua.....	16
1.2    Metales pesados .....	16
1.3    Cadmio .....	17
1.3.1    Propiedades del cadmio. ....	17
1.3.2    Contaminación por cadmio.....	18
1.4    Métodos para la remoción de metales pesados .....	18
2    Fitorremediación.....	19
2.1.1    Técnicas. ....	19
2.1.2    Factores que influyen en la Fitorremediación.....	20
2.1.3    Mecanismos. ....	20
2.2    Azolla sp.....	21
2.2.1    Generalidades de Azolla sp.....	21
2.2.2    Taxonomía de Azolla sp. ....	21
2.2.3    Condiciones ambientales de crecimiento.....	21
2.2.4    Adsorción de cadmio en Azolla sp. ....	22
2.3    Arroz (Oryza sativa. L) .....	22
2.3.1    Generalidades del arroz. ....	22
2.3.2    Taxonomía del arroz. ....	23
2.3.3    Condiciones ambientales de crecimiento.....	23
2.3.4    Adsorción de cadmio en el arroz. ....	23
CAPÍTULO II.....	24
2    METODOLOGÍA .....	24
2.1    Tipo de Investigación.....	24
2.2    Ubicación de la Investigación .....	24

2.3	Materiales, equipos y reactivos .....	24
2.3.1	Materiales.....	24
2.3.2	Reactivos.....	25
2.3.3	Equipos .....	25
2.4	Desarrollo experimental .....	25
2.4.1	Recolección de las muestras. ....	25
2.4.1.1	Azolla. ....	25
2.4.1.2	Semillas de arroz. ....	25
2.4.2	Determinación del porcentaje de germinación de semillas de arroz. ....	26
2.4.3	Contaminación del agua con cadmio (Cd).....	26
2.4.4	Determinación de biomasa de Azolla y semillas de arroz. ....	26
2.4.5	Descripción de los tratamientos.....	26
2.4.6	Procesamiento de las muestras. ....	27
2.4.6.1	Digestión.....	27
2.4.6.2	Análisis químico.....	27
CAPÍTULO III.....		28
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	28
3.1	Arroz .....	28
3.1.1	Porcentaje de germinación del arroz.....	28
3.1.2	Evaluación de los parámetros de crecimiento del arroz.....	29
3.1.2.1	Largo de radícula del arroz (cm) .....	29
3.1.2.2	Largo del epicótilo del arroz (mm).....	30
3.2	Determinación de la capacidad de adsorción de cadmio en la Azolla sp.....	32
3.3	Determinación de la capacidad de adsorción de cadmio en el arroz.....	33
3.4	Evaluación de la capacidad de adsorción de cadmio entre la Azolla sp y el arroz. 35	
CONCLUSIONES .....		37
RECOMENDACIONES.....		38
BIBLIOGRAFÍA .....		39
ANEXOS .....		45

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Propiedades físicas y químicas del cadmio.....	17
<b>Tabla 2.</b> Descripción de los tratamientos .....	27
<b>Tabla 3.</b> ANOVA: Germinación del arroz.....	28
<b>Tabla 4.</b> ANOVA: Largo de la radícula del arroz.....	30
<b>Tabla 5.</b> ANOVA: Largo del epicótilo del arroz. ....	31
<b>Tabla 6.</b> Estadísticas del grupo del Cd en la Azolla .....	32
<b>Tabla 7.</b> Estadísticas del grupo del Cd en arroz.....	34
<b>Tabla 8.</b> ANOVA: Adsorción del Cd entre la Azolla y el arroz.....	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Efecto de la asociación Azolla-arroz en el % de Germinación de la semilla del cereal.....	29
<b>Figura 2.</b> Efecto de la asociación Azolla-arroz en el largo de la radícula de la semilla del cereal.....	30
<b>Figura 3.</b> Efecto de la asociación Azolla-arroz en el largo del epicótilo semilla del cereal. .....	31
<b>Figura 4.</b> Efecto de la asociación Azolla-arroz del cadmio en el helecho acuático.....	33
<b>Figura 5.</b> Efecto de la asociación Azolla-arroz del cadmio en la semilla del cereal. ...	34
<b>Figura 6.</b> Efecto de la asociación Azolla-arroz del cadmio entre los tres tratamientos.	35

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Descripción de la germinación del arroz. ....	45
<b>Anexo 2.</b> Prueba Duncan de la germinación del arroz. ....	45
<b>Anexo 3.</b> Descripción de la radícula del arroz.....	46
<b>Anexo 4.</b> Prueba Duncan del largo de la radícula del arroz. ....	46
<b>Anexo 5.</b> Descripción del epicótilo del arroz. ....	47
<b>Anexo 6.</b> Prueba de Duncan del epicótilo del arroz. ....	47
<b>Anexo 7.</b> Prueba de muestra independiente del Cd en el arroz. ....	48
<b>Anexo 8.</b> Prueba de muestra independiente del Cd en Azolla.....	48
<b>Anexo 9.</b> Descripción del Cd entre la Azolla y el arroz. ....	49
<b>Anexo 10.</b> Prueba de Duncan del Cd entre la Azolla y el arroz. ....	50
<b>Anexo 11.</b> Unidades experimentales de todos los tratamientos ....	51
<b>Anexo 12.</b> Peso previo de la muestra para el proceso de digestión.....	51
<b>Anexo 13.</b> Muestras para el proceso de digestión ....	52
<b>Anexo 14.</b> Muestra en planchas de calentamiento con 10 ml de HNO <sub>3</sub> al 70% .....	52
<b>Anexo 15.</b> Proceso de filtración de cada muestra.....	52

## INTRODUCCIÓN

El arroz es considerado por el mundo como el alimento más importante, en donde el 50% de la población global depende de él como el sustento principal de ingesta calórica.<sup>1</sup> El arroz (*Oryza sativa* L.) es una especie que se puede cultivar en distintos hábitat, como los ambientes expuestos a sequías e inundaciones.<sup>2</sup> El arroz de regadío es un cultivo que necesita suficiente agua además de representar a nivel mundial con el 53 % del área cultivada por arroz.<sup>2</sup>

En relación al consumo de arroz, América Latina se encuentra en el segundo lugar como la región más importante seguidamente de Asia, con un consumo promedio que representa el 80 g/persona/día y en Sudamérica se encuentra Ecuador que es uno de los países que representa un índice superior de consumo per cápita de arroz de 123 g/día.<sup>3</sup> De acuerdo a INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos) la cosecha de arroz en el año 2020 fue de 312.9 miles de hectáreas y en Ecuador la productividad del arroz se encuentra en el segundo lugar. Durante los meses de Enero y Agosto del año 2020 el arroz ha sido exportado cerca de 42.99 mil toneladas.<sup>4</sup>

Los metales pesados son un conjunto de contaminantes perjudiciales que aparecen de diferentes fuentes como en la agricultura, la minería y la industria, con respecto a la fuente del sector agrícola, se la puede categorizar en aguas residuales, pesticidas, fertilizantes y estiércol de ganado.<sup>5</sup> Una investigación desarrollada por Xiao indicó que la industria y la agricultura afectan en gran medida en la contaminación por los metales pesados en terrenos agrícolas y cultivos, principalmente a terrenos que se encuentran cerca de galvanoplastia y fábricas de cemento.<sup>5</sup> Es decir que el suelo superficial es un sitio fértil para acumular contaminantes tóxicos como los metales pesados y posteriormente ser transportados a las plantas mediante la adsorción juntamente con el agua por medio de las raíces y después por el sistema vascular.<sup>5</sup>

Actualmente existen varias investigaciones sobre la agricultura en donde señalan el transporte de los metales pesados del suelo y ser almacenados en diferentes órganos de la planta que son el tallo, raíz y hojas; así como la variedad genotípica del arroz para captar las propiedades del suelo además de adsorber los metales pesados.<sup>6</sup>

El metal cadmio (Cd) es un elemento tóxico para los cultivos, y el exceso de este metal en los terrenos agrícolas afecta considerablemente al desarrollo de las plantas, lo cual perjudica bastante a la calidad y cantidad de la cosecha.<sup>7</sup> También logran acumularse en las diferentes secciones comestibles de la planta para ingresar a la cadena alimentaria, acumulándose en distintos tejidos como son: los huesos, los músculos y el hígado, por ello la presencia de Cd en los cultivos presenta un peligro para la salud humana a largo y mediano plazo.<sup>3</sup>

Debido a las diversas actividades antropogénicas y mineras, la aplicación de fungicidas y sustancias tóxicas que implica que los metales se deriven a los suelos y aguas ocasionando una contaminación que provoca la acumulación de los mismos en los cultivos de arroz.

Para controlar la concentración de metales pesados se aluden algunos tratamientos que pueden ser aplicados, entre ellos se encuentran: bioadsorción y la adsorción; la reducción-oxidación además, la desionización, tecnología mediante membrana, a su vez la restauración por la evaporización, técnicas de precipitación y también se encuentran técnicas de fitorremediación y filtración.<sup>8</sup>

Un método para minimizar las concentraciones de los metales pesados y radionucleicos encontrado en los suelos y aguas, se denomina fitorremediación el cual se basa en el uso de microbios y plantas por lo que se considera como una técnica eficaz, rentable aproximadamente reciente además de ser amigable con el ambiente, se ayuda de la energía solar como su fuente de impulso.<sup>9</sup>

El helecho acuático denominado Azolla se desarrolla generalmente en piscinas, aguas de arroz además de arroyos, esta especie vive en simbiosis con el alga *Anabaena Azollae*.<sup>10</sup> Esta especie es fitorremediadora ya que tiene la capacidad de captar y acumular altas concentraciones de metales que pueden estar presentes en diferentes ambientes sobre todo en el suelo y agua.

En la actualidad no se encuentra demasiada información descrita, convirtiéndolo en un tema desconocido, por esto, la presente investigación tiene como objetivo principal evaluar, con la aplicación de técnica de análisis, la capacidad de adsorción de la Azolla sp que se encuentra contaminada con una solución acuosa de cadmio y sembradas con semillas de arroz, aprovechando su propiedad para captar y almacenar metales en diferentes concentraciones.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Evaluar la capacidad de adsorción de *Azolla* sp en aguas contaminadas con cadmio y sembradas con semillas de arroz para conocer la capacidad fitorremediadora del helecho acuático.

### **Objetivos Específicos**

Determinar la capacidad de adsorción de cadmio en la *Azolla* sp.

Determinar la capacidad de adsorción de cadmio en el arroz.

Evaluar la capacidad de adsorción de cadmio entre la *Azolla* sp y el arroz.

## CAPÍTULO I

### 1 MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Contaminación del Agua

El agua hoy en día representa un creciente problema a la población en el mundo debido a su gran escasez económica ocasionando que millones de personas experimenten por lo menos un mes dentro de un año. Se ha estimado últimamente por medio de científicos que los puntos de inflexión de sostenibilidad han sido cruzados debido a que supera más de la mitad de los 37 acuíferos más grandes en el mundo. Se estipula que para el año 2025 la escasez del agua sea absoluta afectando a millones de personas que viven en distintos lugares del mundo.<sup>11</sup>

El agua superficial se encuentra contaminada principalmente por actividades antropogénicas, las cuales son: la extracción de recursos, agricultura, construcciones, municipios, las diferentes industrias. Por otro lado, el agua proveniente de las lluvias no es realmente libre de impurezas. También, el agua puede contaminarse por medio de la tierra, esto se debe a que en ella se puede encontrar ácidos extraídos que fueron añadidos por medio de diversos procesos además de compuestos orgánicos, partículas y sales marinas disueltas. Del mismo modo, el agua puede ser contaminada por contaminantes de origen natural, esto se debe a que existen gases dentro de las plantas ya sea por su crecimiento o por la descomposición provocando que se precipiten dentro de la tierra y la contamine.<sup>12</sup>

#### 1.2 Metales pesados

Una de las principales fuentes de contaminación dentro del ambiente son los metales pesados ya que logran lixiviarse además de que no consiguen degradarse<sup>13</sup>. Las actividades naturales y antropogénicas en donde son requeridos metales pesados como parte de su trabajo han logrado ocasionar a través de los años una considerable contaminación ambiental, especialmente al agua.<sup>14</sup>

La contaminación por metales pesados produce diferentes tipos de daños no solo al ecosistema en el que se encuentra en vuelto el ser humano, sino directamente a él, a la salud de la humanidad, puesto que estos contaminantes se encuentran infiltrados por medio de los suelos y el agua ocasionando la ingesta de alimentos contaminados, el consumo del agua contaminada lo que a su vez provoca una reducción dentro de la calidad de los alimentos, ya que las tierras no son aptas para los proceso de agricultura y por ende exista una inseguridad en la área alimentaria.<sup>15</sup>

### 1.3 Cadmio

El elemento químico denominado “Cadmio” con sus abreviaturas Cd se encuentra dentro del grupo XII de la familia del zinc en la tabla periódica posee un número atómico 48 y peso atómico de 112.41 g/mol.<sup>16</sup>

#### 1.3.1 Propiedades del cadmio.

Dentro de las propiedades que posee el elemento químico cadmio se encuentra su color blanco-plateado característico semejante a los signos de su XII familia como son el zinc y mercurio además de poseer similares propiedades tanto físicas como químicas.<sup>16</sup> Sus propiedades se muestran en la tabla 1:

**Tabla 1.** Propiedades físicas y químicas del cadmio

Número atómico	48
Peso atómico	112.41
Radio atómico	155 h
Configuración electrónica	4d <sub>10</sub> 5s <sub>2</sub>
Punto de Fusión	321.07 °C
Punto de ebullición	767.3 °C
Densidad a 20 °C	8.65 g/cm <sup>3</sup>
Potencial de reducción Cd <sub>2</sub> +2e -> discos compactos	-0.40 E
Calor de fusión	6.21 kJ/mol
Calor de vaporización	99.6 kJ/mol
Electronegatividad (escala de Pauling)	1.69
Primera energía de ionización	876.8 kJ/mol
Segunda energía de ionización	1631.4 kJ/mol

**Fuente:** (Genchi , Sinicropi, Lauria, Carocci, & Catalano, 2020)<sup>16</sup>

### *1.3.2 Contaminación por cadmio.*

El cadmio se considera uno de los metales pesados con mayor toxicidad hacia los seres humanos como los organismos vivos además de que este elemento posee actividad biológica dentro de organismos acuáticos como terrestres.<sup>15</sup>

Dentro de los efectos no deseados ocasionados por la contaminación del cadmio en los seres vivos se encuentra afectado particularmente los sistemas vasculares y los órganos tales como el hígado y los riñones.<sup>17</sup>

## **1.4 Métodos para la remoción de metales pesados**

Existen diversas técnicas de remoción de los metales pesados para ello se las clasifica en técnicas convencionales y no convencionales. Donde, la primera hace referencia a los métodos que comúnmente se emplean y la segunda hace referencia a métodos innovadores para la remoción de estos contaminantes.<sup>18</sup>

### Técnicas convencionales

- Filtración por membrana
- Intercambio iónico
- Adsorción
- Precipitación química
- Electrocoagulación
- Electroflocculación
- Flotación
- Fotocatálisis en la degradación de metales pesados

### Técnicas no convencionales

- Adsorbentes de bajo costo y nuevos adsorbentes
- Fitorremediación
- Biopolímeros
- Hidrogeles
- Ceniza Volante

## 2 Fitorremediación

Es una técnica que utiliza plantas en su proceso para capturar a los agentes contaminantes, su proceso se lleva a cabo de manera natural por ello hace uso del sol como su motor de energía considerándose así una técnica eficiente, rentable y renovadora debido a que disminuye los contaminantes localizados por las capas freáticas de los suelos además de ayudar en el mantenimiento de los suelos y mejorar su calidad.<sup>19</sup>

### 2.1.1 Técnicas.

La fitorremediación posee diferentes técnicas para remover los metales pesados en las cuales se encuentran incluidas cinco subclases como la fitoestimulación, fitoestabilización, fitoextracción, fitotransformación y fitofiltración.

- Fitoestimulación hace uso de actividad microbiana para desintegrar los contaminantes orgánicos que se encuentran en la rizósfera, por ello es que se la conoce también con el nombre de rizodegradación.<sup>13</sup>
- Fitoestabilización tiene como objetivo el reducir/inmovilizar los riesgos de exposición y la biodisponibilidad secuestrando los metales pesados en el interior de la rizósfera de la planta, también se la puede denominar como fitoinmovilización.<sup>20</sup>
- Fitoextracción tiene como objetivo extraer componentes tóxicos que se encuentran en el suelo hacia la biomasa aérea para que se coseche con el fin de su recuperación o eliminación, todo este proceso se lo realiza mediante el uso de plantas.<sup>21</sup>
- Fitotransformación utiliza las plantas con el objetivo de transformar o degradar los contaminantes que se encuentran en el exterior o interior de los tejidos vegetales para que ella pueda producir los compuestos que regularmente, las enzimas, lo hace en sus procesos. También existe la posibilidad que se liberen por medio de las raíces los compuestos que sean necesario para el proceso de degradación dado el caso en el cual los contaminantes presenten una transformación en el exterior.<sup>22</sup>
- Fitofiltración tiene como objetivo remover o eliminar los metales pesados que se encuentran en el agua por medio de la concentración o adsorción de los compuestos en raíces o brotes.<sup>23</sup>

### *2.1.2 Factores que influyen en la Fitorremediación*

Entre los factores que influyen en la remediación del Cadmio a través de las plantas tenemos la temperatura, el pH, la concentración de los elementos que son diferentes al Cadmio e inclusive su concentración en los medios.<sup>24</sup>

También se encuentran otros factores que tienen el efecto de distribuir y acumular en las plantas a los HM como son, las especies de plantas, las condiciones medioambientales, la zona de las raíces, la composición de las especies elementales y de las raíces, asimismo de las propiedades biológicas y fisicoquímicas del suelo.<sup>25</sup>

### *2.1.3 Mecanismos.*

La fitorremediación posee un mecanismo básico que consiste en utilizar plantas de rápido desarrollo con el propósito de suprimir contaminantes tóxicos en el agua o el suelo y dependiendo del mecanismo a emplearse para eliminar los metales pesados de la superficie, se puede dividir a la fitorremediación en 5 tipos que son: fitoestimulación, fitofiltración, fitoestabilización, fitoextracción y fitotransformación.<sup>26</sup>

Varios investigadores desarrollaron una investigación detallada sobre los mecanismos de acumulación de Cd y la desintoxicación en las plantas, además las plantas que son hiperacumuladoras de metales pesados como el Cd acogieron diferentes mecanismos moleculares y celulares para su desintoxicación, también la hiperacumulación involucra principalmente tres procesos que son: la adsorción, el transporte y la translocación.<sup>24</sup>

La adsorción de Cd en las plantas se efectúa primeramente por medio de las raíces, aunque existen ciertos factores que son los responsables de la adsorción óptima del Cd<sup>2+</sup> y son el ácido húmico, el pH y el medio, además para que el Cd se pueda transportar se debe de tomar en cuenta las propiedades de la planta, del metal y del medio.<sup>24</sup>

Para una excelente fitorremediación lo recomendable es utilizar especies de plantas que deben ser fáciles de cultivar, sean de elevada producción de biomasa, puedan tolerar contaminantes tóxicos como los metales pesados, resistentes a la naturaleza y no ser atractiva para la herbívora.<sup>27</sup>

## **2.2 Azolla sp**

### *2.2.1 Generalidades de Azolla sp.*

La Azolla es una pteridofita o generalmente un helecho que tiene una extensa distribución en ecosistemas tanto tropicales como en aguas templadas, en los pantanos, lagos y acequias<sup>28</sup>. Los poros o estomas que presenta la Azolla se encuentran en una simbiosis con cianobacterias que son las encargadas de fijar el N<sub>2</sub> y su nombre (*Anabaena Azollae*), es decir que son simbioses y captan de la atmósfera el N<sub>2</sub>.<sup>29</sup>

Tiene gran importancia en el este y sur de Asia al ser utilizada como biofertilizante, asimismo es valorada por tener la capacidad de fijar N<sub>2</sub> para beneficiar a los cultivos entre ellos el arroz y es un excelente alimento para la cría de animales.<sup>29</sup>

Las partes del helecho acuático Azolla consiste principalmente en un tallo que se desarrolla sobre el agua, se conforma por raíces y hojas adventicias a distancias regulares en todo el tallo<sup>30</sup>. Aunque la especie Azolla es la planta macrófita más pequeña, es la de mayor importancia económicamente en el mundo, estas crecen y flotan sobre el agua de manera individual o en esteras.<sup>31</sup>

Incluso, las especies del helecho Azolla sería un agente respetuoso e ideal para el medio ambiente debido a sus múltiples usos que son: en piensos, agricultura, alimentos, producir biocombustible y en la fitorremediación de aguas dulce en zonas contaminadas.<sup>32</sup>

### *2.2.2 Taxonomía de Azolla sp.*

Por lo general se incorpora al género Azolla sp. con la familia Salvinaceae, en el género Salvinia, con el orden Salviniales y se separa con la familia Azollaceae.<sup>33</sup>

### *2.2.3 Condiciones ambientales de crecimiento.*

Se conoce a la Azolla como una planta única debido a su rápido desarrollo ya que es capaz de duplicar en tan solo 5 a 10 días el área que cubre, también se extiende vegetativamente cuando se rompe y se desarrolla plantas separadas y sexualmente a través de esporas diminutas (masculinas) y esporas grandes (femeninas).<sup>31</sup>

Es una planta resistente que es capaz de subsistir en el agua donde han notado un óptimo crecimiento a elevadas temperaturas de entre 25 a 35 °C, lo cual ha dado lugar a una especie que logra colonizar zonas fácilmente y desarrollarse con rapidez multiplicando su biomasa cada 2 o 3 días.<sup>34</sup>

#### *2.2.4 Adsorción de cadmio en Azolla sp.*

Una investigación acerca de la Azolla caroliniana señaló que la existencia del cobre es muy tóxica para esta especie, además presenta un bajo porcentaje de eliminación de residuos que contenga cobre<sup>35</sup>. Sin embargo es un helecho acuático con gran potencial para proyectos de fitorremediación por tener la capacidad de captar y acumular contaminantes tóxicos como el níquel, cadmio, zinc y cromo.<sup>36</sup>

La Azolla puede presentar distintos patrones para eliminar Pb e inclusive puede almacenar mayores concentraciones de Pb, siendo capaz de adsorber el 99,28 % de Pb y el 65,89 % de Cd.<sup>30</sup>

En otras investigaciones acerca de la Azolla, han registrado que a mayor concentración de Cadmio cedida a la Azolla puede surgir un impacto tóxico en la actividad metabólica del helecho, la planta es capaz de tolerar la condición de estrés hasta 0,1 mg Cd L<sup>-1</sup>; más del límite establecido provoca la producción de enzimas antioxidantes y una inestabilidad en el estrés oxidativo lo que provoca a un decrecimiento y cambios en las actividades fisiológicas de la Azolla.<sup>37</sup>

### **2.3 Arroz (*Oryza sativa*. L)**

#### *2.3.1 Generalidades del arroz.*

El arroz (*Oryza sativa*) es conocido como el cultivo de gramíneas de gran importancia y fuertemente enlazado con la vida de unos miles de millones de habitantes.<sup>38</sup> En otras palabras el arroz es el sustento básico para más o menos la mitad de la población global, y se pronostica que incremente en un 28 % la demanda mundial de arroz para el año 2050.<sup>39</sup>

Aunque, la productividad del arroz se ha detenido en un 35 % en cada una de las regiones que son productoras de arroz, la mejora de la producción del arroz se ha visto reducida en gran medida debido al desgaste de la fertilidad a causa de la agricultura prolongada.<sup>39</sup>

### 2.3.2 *Taxonomía del arroz.*

El arroz es perteneciente a la División: Angiospermae, al Orden: Glumiflorae, a la Clase: Monocotyledoneae, en la Familia: Poaceae (gramineae) y a la tribu: Oryzeae, ambas especies cultivadas: la *Oryza sativa* L. y *Oryza glaberima* son de reproducción autogama y diploides con  $2n=24$  cromosomas, no obstante el género *Oryza* cuenta con más de 24

Clases que se desarrollan en regiones semi-sombreadas, inundadas e incluso en bosques de África, Austria, Sureste de Asia, Centro y Sur de América.<sup>40</sup>

### 2.3.3 *Condiciones ambientales de crecimiento.*

El arroz es un tipo de planta débil frente a una extensa variedad de estreses abióticos entre ellos son la salinidad, la inmersión, la sequía, el frío y los metales pesados, a lo largo del desarrollo y crecimiento de la planta es posible que se enfrente de manera constante a diferentes estreses bióticos y abióticos.<sup>2</sup>

La manipulación de prácticas puede traer un efecto visible en la observación de la planta al estrés biótico, mientras tanto en el estrés abiótico tenemos a la deficiencia o el exceso de agua en el suelo, los rayos ultravioleta y elevadas temperaturas, estos son factores principales que reducen en condiciones de campo al rendimiento de los cultivos.<sup>2</sup>

### 2.3.4 *Adsorción de cadmio en el arroz.*

Existen algunos tratamientos tanto biológicos como químicos utilizados para monitorear la absorción de Cd a través de las plantas en los cultivos de arroz, como por ejemplo los óxidos metálicos, compuestos de fosfato, (MO) materia orgánica y enmiendas con cal.<sup>41</sup>

Pero en la práctica estos procedimientos aún son escasos, en especial cuando se da en gran escala por los hábitos de cultivo, los probables peligros de contaminación accidental, los costos y la disparidad regional, de modo que, todavía se debe investigar una perspectiva que sea factible para reducir la biodisponibilidad del cadmio con métodos de cultivo que sean rentables y sin alteraciones.<sup>41</sup>

## CAPÍTULO II

### 2 METODOLOGÍA

#### 2.1 Tipo de Investigación

La presente investigación fue de carácter comparativo-descriptivo y experimental, se aplicó la técnica de análisis Espectroscopia de emisión atómica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) para determinar la capacidad de adsorción de cadmio, también, se llevó a cabo un análisis estadístico con los resultados mediante el software Statistical Package for social Sciences (SPSS).

#### 2.2 Ubicación de la Investigación

La investigación fue realizada en dos instituciones, el experimento se realizó en el laboratorio de biomateriales de la Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala ubicada en la Av. Km 5 ½ vía a Pasaje – Machala. Mientras que, los análisis del experimento se realizaron en el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria en la ciudad de Quevedo.

#### 2.3 Materiales, equipos y reactivos

##### 2.3.1 *Materiales.*

- Tubos de ensayo
- Guantes
- Vasos de precipitación de 50 ml, 100 ml, 250 ml y 2000 ml.
- Papel filtro
- Papel absorbente
- Parafilm
- Balón volumétrico 100 ml y 1000 ml
- Espátula
- Pinza
- Mortero
- Varilla agitadora
- Bandejas de plástico de ½ L y 2 L
- Fundas ziploc
- Etiquetas

- Rotulador
- Tubos de centrifuga polipropileno

### 2.3.2 *Reactivos.*

- Agua potable
- Agua destilada
- Cloruro de cadmio ( $\text{CdCl}_2$ )
- Hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ )
- Ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ )
- Alcohol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ )

### 2.3.3 *Equipos*

- Balanza analítica
- pHmetro
- Analizador de humedad OHAUS | MB90/MB120
- Desecador
- Agitador
- Estufa
- Plancha de calentamiento
- Campana extractora de gases

## **2.4 Desarrollo experimental**

### 2.4.1 *Recolección de las muestras.*

#### 2.4.1.1 *Azolla.*

La Azolla fue capturada de su ambiente natural en la ciudad de Pasaje - provincia de El Oro, fueron capturadas mediante unos challos hasta completar 700 g y luego se colocó en un balde plástico para trasladarlo al laboratorio.

#### 2.4.1.2 *Semillas de arroz.*

Las semillas de arroz se obtuvieron del sitio La Cuca del cantón Arenillas – provincia de El Oro.

#### 2.4.2 *Determinación del porcentaje de germinación de semillas de arroz.*

Se procedió a colocar las semillas de arroz en dos recipientes plásticos con 500 ml de agua, luego se descartaron las semillas que flotaron, seleccionando las que quedaron en el fondo para el experimento.

Las semillas seleccionadas fueron colocadas sobre un sustrato que consistió en servilletas húmedas. Se las mantuvo por 5 días, tiempo en la que empezaron a germinar las semillas. Información que sirvió para establecer que las semillas tenían un 98 % de germinación y que requerían por un tiempo de 5 días para realizar este proceso.

#### 2.4.3 *Contaminación del agua con cadmio (Cd).*

Se realizó el respectivo cálculo para preparar un L de solución de Cadmio a una concentración de 50 ppm que fue obtenida a partir del compuesto  $\text{CdCl}_2$ . A partir de los 50 ppm de Cd se pesó 0.081 g/L de  $\text{CdCl}_2$ .

Luego a un 1L de agua destilada se ajustó el pH a 6 con el  $\text{HNO}_3$  a 0.1 M y NaOH a 0.1 M, debido a que si el pH es mayor a 6 esto provocaría que el Cd se llegue a precipitar, este dato se determinó mediante un software Medusa. Posteriormente se mezcló con la dosis del compuesto  $\text{CdCl}_2$  en un vaso de precipitación de 2000 ml y luego se aforó en un balón volumétrico de 1000 ml.

#### 2.4.4 *Determinación de biomasa de Azolla y semillas de arroz.*

En base a experimentos previos realizados dentro de esta investigación, se determinó que se debía realizar una relación de 0.5 a 2, es decir 50 g de Azolla y 2 g de semillas de arroz en 50 ml de agua contaminada con Cd para todas las unidades experimentales.

#### 2.4.5 *Descripción de los tratamientos.*

Se utilizó un diseño completamente al azar 4 x 3, generándose 12 unidades experimentales (bandejas plásticas). Cada unidad experimental de cada tratamiento fue ubicada de manera aleatoria a la misma distancia, temperatura, posición, con iluminación directa, para que todos se encuentren en las mismas condiciones, y no se presente alteraciones durante las 72 horas que duró la experimentación. Se procedió a realizar cuatro tratamientos cada uno con tres réplicas los cuáles son mostrados en la Tabla 4.

**Tabla 2.** Descripción de los tratamientos

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción del tratamiento</b>
T1	<i>Azolla sp.</i> + agua con solución de cadmio (50 ppm)
T2	Semillas de arroz + agua con solución de cadmio (50 ppm)
T3	<i>Azolla sp.</i> + semillas de arroz + solución de cadmio (50 ppm)
T4	<i>Azolla sp.</i> + semillas de arroz + agua destilada (control)

**Fuente:** Elaboración propia

#### 2.4.6 *Procesamiento de las muestras.*

A las 72 horas en la que finalizó el experimento, se realizó la observación de cada tratamiento: en el tratamiento 1 se analizó los cambios de color de la *Azolla*, en el tratamiento 2, se midió con una regla la radícula y el epicótilo desarrollado y el porcentaje de germinación de las semillas de arroz, en el tratamiento 3 se observó los cambios en la *Azolla* y de igual manera se midió tanto la radícula como el epicótilo y el porcentaje de germinación de las semillas de arroz, en el tratamiento 4 también se observó los cambios en la *Azolla* y se midió el epicotíleo y la radícula y el porcentaje de germinación.

Una vez finalizado el experimento e identificado sus características, las muestras de *Azolla* y semillas de arroz fueron recolectadas para ser secadas por medio de un esterilizador por 48 horas a una T 80 °C y molidas con un mortero para posteriormente ser sometidas al proceso de digestión.

##### 2.4.6.1 *Digestión.*

Para realizar la digestión de las muestras fue fundamentada en base al artículo científico Cohen-Shoel, Barkay, Ilzyer, Gilath & Tel (2002) “Biofiltration of toxic elements by *Azolla* biomass” el proceso fue una digestión ácida abierta que se llevó a cabo en planchas de calentamiento dentro de una campana extractora de gases para lo cual se pesó 300 mg de la *Azolla sp* y las semillas de arroz, que hirvieron en 10 ml de HNO<sub>3</sub> al 70% hasta que se evaporaron y el sedimento se lo disolvió en 50 ml de agua destilada que posteriormente fue filtrado y almacenado en tubos plástico de 50 ml.

##### 2.4.6.2 *Análisis químico.*

Los análisis químicos fueron realizados por el método de espectroscopia de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP – OES) en los laboratorios de INIAP.

## CAPÍTULO III

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Arroz

##### 3.1.1 Porcentaje de germinación del arroz.

Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para poder comparar si existe una igualdad o diferencia en el porcentaje de germinación de arroz dentro de los tratamientos.

La tabla 3 indica que existe una diferencia altamente significativa entre los tratamientos ya que el p-valor obtenido en la prueba de ANOVA de un factor intergrupar es igual a 0,30 siendo menor que alfa.

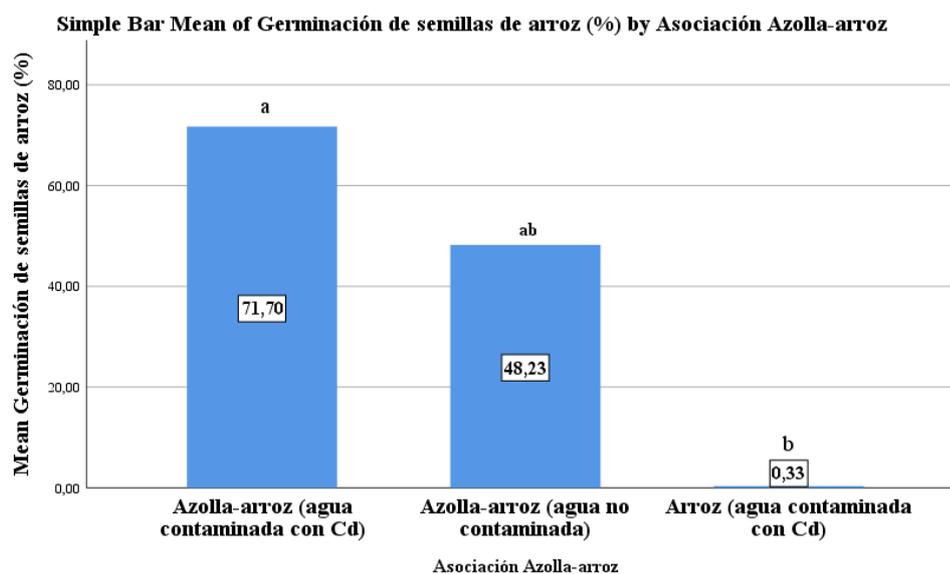
*Tabla 3. ANOVA: Germinación del arroz.*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<b>Between Groups</b>	7938,296	2	3969,148	6,6850	,030
<b>Within Groups</b>	3580,973	6	596,829		
<b>Total</b>	11519,269	8			

*Fuente: Elaboración propia.*

A continuación, se muestran los resultados mediante barras en la figura 1, los cuales fueron realizados mediante la prueba Duncan para determinar si existe una igualdad de media en los porcentajes de germinación de cada tratamiento.

Se puede observar que existe una diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el b con el menor porcentaje de 0,33 en comparación con a = 71,40 y ab = 48,23, debido a que en el b solo se encontraban las semillas de arroz con el contaminante, en cambio en el a y ab se hallaban en conjunto con la Azolla, la misma que benefició al cultivo.



**Figura 1.** Efecto de la asociación Azolla-arroz en el % de Germinación de la semilla del cereal.

NOTA: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento para  $p$ -valor  $\leq 0.05$  (Prueba de Duncan). Fuente: Elaboración propia

Buendía - Valverde , Trejo - Téllez , & Aguilar - Rincón (2018) en su artículo de investigación compartió que sus resultados muestran que la media de germinación con Cd en concentraciones de (25 y 50  $\mu$ M) es de 96,3%, en nuestro trabajo de investigación que se aplicó la prueba de Duncan, se observa que su porcentaje fue mínimo, las causas son la elevada concentración con la que se trabajó. Aunque explica que el Cd puede inhibir en la germinación de las semillas del arroz además del crecimiento de las raíces e inducir aberraciones cromosómicas y formación de micronúcleos por lo que esta es una razón que no permitió que germine.

### 3.1.2 Evaluación de los parámetros de crecimiento del arroz.

#### 3.1.2.1 Largo de radícula del arroz (cm)

Para determinar si existe una diferencia o igualdad en el largo de la radícula del arroz que se encuentra en los tratamientos se aplicó un test paramétrico ANOVA.

A continuación en la tabla 4 se puede observar que en el p-valor de análisis de varianza dio como resultado 0,00 lo que nos indica que al ser menor que alfa este presenta una desigualdad en el largo de la radícula del cereal de los distintos tratamientos.

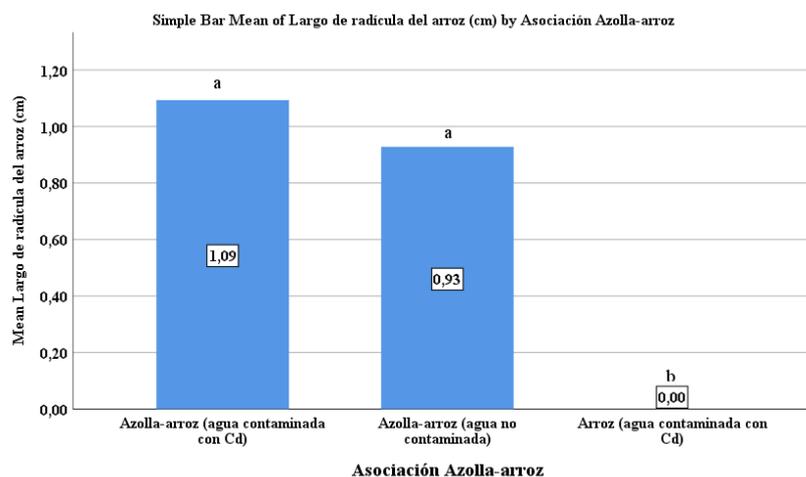
**Tabla 4.** ANOVA: Largo de la radícula del arroz.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<b>Between Gruoups</b>	25,016	2	12,508	55,253	,000
<b>Within Groups</b>	23,770	105	,223		
<b>Total</b>	48,786	107			

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con la figura 2, se observa el resultado de la prueba de Duncan (anexo 4) mediante un diagrama de barras en el cual se puede comparar si existe diferencia o igualdad en el largo de la radícula del arroz de cada tratamiento.

Los resultados muestran que entre el T3 (Azolla - arroz) (a) es igual a 1,09 y T4 (Azolla - arroz) (a) dio 0,93 lo que indica que no existe diferencia significativa en comparación con el T2 (Arroz) (b) que presentó un valor de 0,00 l lo cual muestra que si existe una diferencia.



**Figura 2.** Efecto de la asociación Azolla-arroz en el largo de la radícula de la semilla del cereal.

NOTA: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento para  $p$ -valor  $\leq 0.05$  (Prueba de Duncan). Fuente: Elaboración propia

### 3.1.2.2 Largo del epicótilo del arroz (mm)

En la tabla 5 contiene un test paramétrico, el cual nos permite comparar entre los tratamientos un análisis de varianza en el largo del epicótilo.

Los resultados de la tabla 5 muestran una desigualdad en el largo del epicótilo del cereal en los tratamientos debido que el p-valor del test dio como resultado 0,00 siendo este menor que alfa.

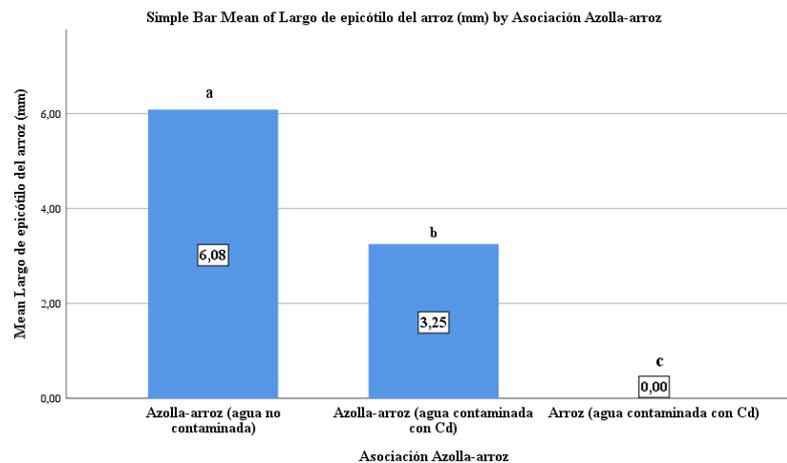
**Tabla 5.** ANOVA: Largo del epicótilo del arroz.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<b>Between Gruoups</b>	667,167	2	333,583		,000
<b>Within Groups</b>	1110,000	105	10,571		
<b>Total</b>	1777,167	107			

Fuente: Elaboración propia.

Para realizar el diagrama de barras se hizo un test de Duncan (anexo 6) que permitió observar si presentan diferencias o igualdades comparando el largo del epicótilo del arroz entre los todos tratamientos.

Conforme a la figura 2 cuyos resultados obtenidos en los tratamientos son: T4 (Azolla - arroz) igual a 6,08; T3 (Azolla – arroz) igual a 3,25; y T2 (Arroz) es igual a 0,00. Esto nos indica que entre los tres tratamientos si se encuentra una diferencia significativa.



**Figura 3.** Efecto de la asociación Azolla-arroz en el largo del epicótilo semilla del cereal.

NOTA: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento para p-valor  $\leq 0.05$  (Prueba de Duncan). Fuente: Elaboración propia

Se puede explicar que si existe una relación con los resultados de la teoría propuesta por Pernía, Añazco, Mero, Mayía, & Cobos (2021) ya que se demuestra que la variedad de arroz ‘INIAP-FL-Cristalino’ donde mostró una disminución del largo de las radículas y epicótilo a partir de 1 mg.L<sup>-1</sup> Cd, debido a que utilizaron concentraciones bajas desde 0.25 a 8 mg.L<sup>-1</sup>. En la experimentación que se llevó a cabo para los tratamientos, se indicó que la concentración sería de 50 mg.L<sup>-1</sup>, ocasionando que no se desarrollen, por tal motivo no existe un crecimiento en su radícula y epicótilo tal como se observa en las figuras 2 y 3 del tratamiento que solo conlleva arroz y agua contaminada con Cd, por lo que se puede decir que a mayor concentración del metal se reducirá su desarrollo, de manera que en los dos tratamientos restantes que contienen Azolla si se observó un desarrollo en su radícula y epicótilo, la misma que les benefició.

### 3.2 Determinación de la capacidad de adsorción de cadmio en la Azolla sp.

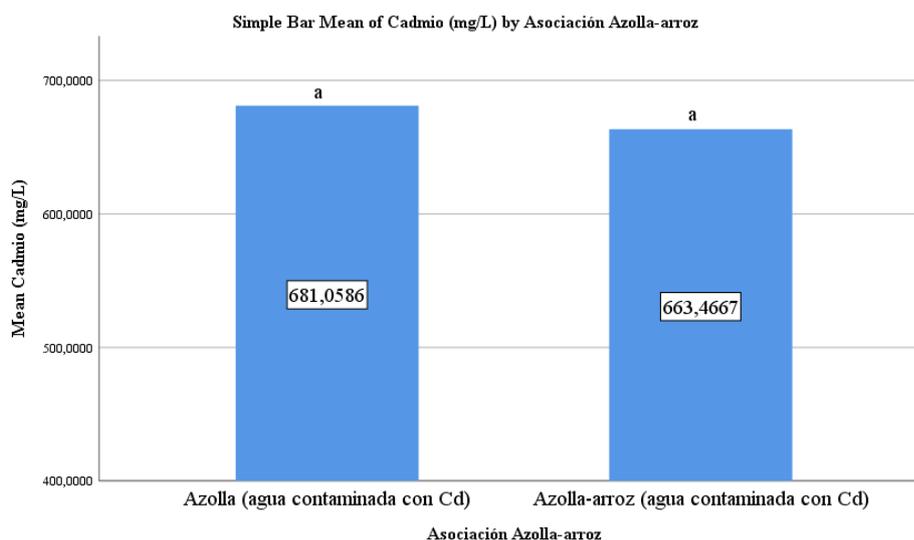
En la tabla 6 se aplicó un estadístico de grupo en el cual se comparó la T1 (Azolla) con el T3 (Azolla - arroz) para poder determinar la capacidad de adsorción de Cd presente en la Azolla, según el anexo 7 en los grados de libertad (df) muestra que no existe una diferencia.

**Tabla 6.** Estadísticas del grupo del Cd en la Azolla

	<b>Asociación Azolla - arroz</b>	<b>N</b>	<b>Mean</b>	<b>Std. Deviation</b>	<b>Std. Error Mean</b>
Cadmio (mg/kg)	Azolla (agua contaminada con Cd)	3	681,058633	13,1419509	7,5875089
	Azolla – arroz (agua contaminada con Cd)	3	663,466667	12,4803078	7,2055091

*Fuente: Elaboración propia.*

En la siguiente figura 4 se observa que entre la media de los tratamientos que contienen Azolla no se presenta una diferencia, contrario a ello, los valores son muy semejantes lo cual indica que la Azolla en ambos tratamientos tiene la misma capacidad de adsorción del metal.



**Figura 4.** Efecto de la asociación Azolla-arroz del cadmio en el helecho acuático.  
 NOTA: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento para  $p$ -valor  $\leq 0.05$  (Prueba de Duncan). Fuente: Elaboración propia

En base a los resultados obtenidos en la investigación de Ballesteros (2011) se establece que la biomasa de la Azolla adsorbe las concentraciones de los metales pesados, además, además, indica que entre los tratamientos que se realizaron su promedio de adsorbancia fue muy semejante, verificando los tratamientos aplicados en esta investigación se puede observar que en la figura 4, de igual manera, la capacidad de adsorción de la Azolla no presenta una diferencia significativa, por lo que el autor aporta que el helecho es capaz de acumular y/o tolerar altas concentraciones del metal en sus células, lo que establece que se podría relacionar la síntesis de fitoquelatinas.

### 3.3 Determinación de la capacidad de adsorción de cadmio en el arroz.

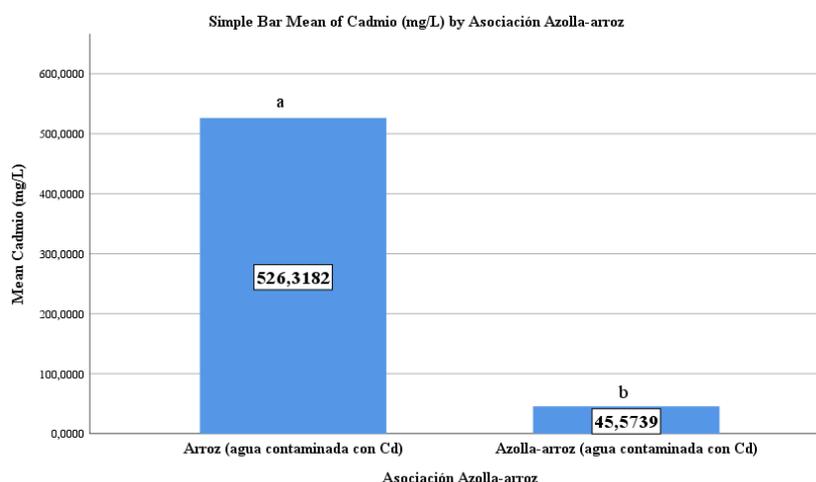
De acuerdo con la tabla 7 indica que entre los tratamientos T2 (Arroz) y T3 (Azolla - arroz) se realizó un test estadístico grupal para relacionarlos y observar si presentan diferencia o similitud en su capacidad de adsorción. Para ello se aplicó la prueba de muestra independiente que se encuentra en el anexo 8 el mismo que indica que si existe una diferencia altamente significativa en sus medias.

**Tabla 7.** Estadísticas del grupo del Cd en arroz.

	Asociación Azolla - arroz	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Cadmio (mg/kg)	Arroz (agua contaminada con Cd)	3	526,318200	25,0278985	14,4498639
	Azolla – arroz (agua contaminada con Cd)	3	45,573867	10,2146883	5,8974530

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con la figura 5 se señala que el valor del T2 (Arroz) es igual a 526,3182 y el resultado del T3 (Azolla – arroz) es de 45,5738; lo cual indica que el arroz estando en presencia con la Azolla no tiene la misma capacidad de adsorción que estando solo en presencia del metal.



**Figura 5.** Efecto de la asociación Azolla-arroz del cadmio en la semilla del cereal.

NOTA: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento para  $p$ -valor  $\leq 0.05$  (Prueba de Duncan). Fuente: Elaboración propia

Según el estudio de Liu, y otros (2021) demostraron que las acumulaciones del Cd en el arroz sin Azolla fueron de 14,6; 1,07 y 0,46 mg.kg<sup>-1</sup>, pero cuando se incorporó al tratamiento el helecho, la adsorción del arroz disminuyó significativamente, demostrando que si existe una semejanza en su capacidad de adsorción, como se observa en la figura 5 en el T2 (arroz) (a) que estando sola presenta un mayor grado de adsorción que estando en presencia con la Azolla en el T3 (Azolla – arroz).

### 3.4 Evaluación de la capacidad de adsorción de cadmio entre la Azolla sp y el arroz.

Según la tabla 8 de la adsorción del cadmio entre la Azolla y el arroz en el que se aplicó el test ANOVA con el fin de realizar una comparación entre las muestras que contenían al contaminante.

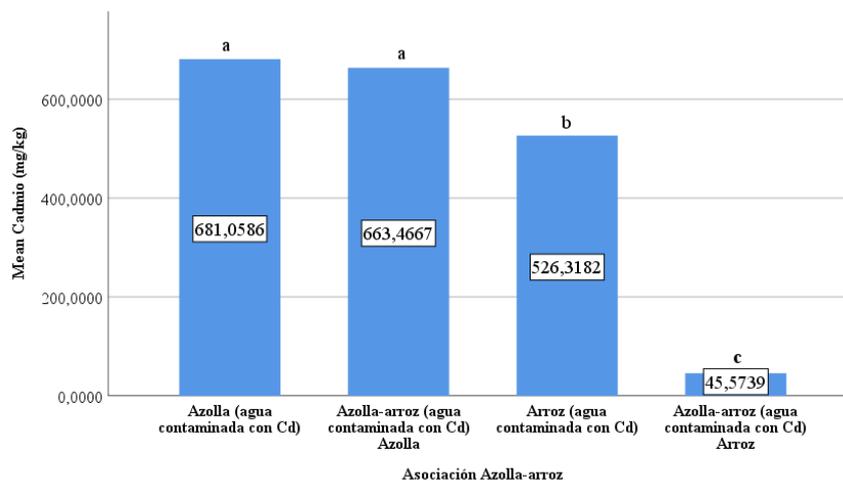
Los resultados que nos da la tabla 8 en el p-valor es menor igual a 0.05 alfa lo que significa que al menos uno de los tratamientos objeto de estudio si presenta diferencia con relación a los demás debido a la presencia de la Azolla.

**Tabla 8.** ANOVA: Adsorción del Cd entre la Azolla y el arroz.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
<b>Between Gruoups</b>	794858,472	3	264952,824	1000,573	,00
<b>Within Groups</b>	2118,409	8	264,801		
<b>Total</b>	796976,881	11			

Fuente: Elaboración propia

En la figura 6 se realizó la prueba de rango múltiple de Duncan, ubicada en el anexo 10, la cual señala que el T3 (Azolla-arroz) (c) presenta menor adsorción con referencia al arroz, lo que puede estar asociado a que la Azolla es un helecho fitorremediador debido a que es capaz de acumular al metal



**Figura 6.** Efecto de la asociación Azolla-arroz del cadmio entre los tres tratamientos. NOTA: Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas entre tratamiento para p-valor  $\leq 0.05$  (Prueba de Duncan). Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con el estudio de Liu, y otros (2021) se verifico que la Azolla en conjunto con el arroz adsorbe mayor cantidad de concentración de cadmio, lo que indica el estudio del autor, un menor transporte de Cd desde las raices al brote debido a la menor cantidad de adsorción de Cd por las raices, como se observa en la figura 6, los T1 (Azolla) (a) y T3 (Azolla - arroz) (a) no presentan diferencias significativas en su capacidad de adsorción, en cambio en el T2 (arroz) (b) tiende adsorber de igual manera como la Azolla mayor cantidad del metal, en contraste con el T3 (Azolla - arroz) (c) presentando una diferencia altamente significativa debido a que el arroz no es capaz de adsorber estando en presencia con el helecho acuatico.

## CONCLUSIONES

Se determinó la capacidad de adsorción de cadmio en la Azolla en los dos tratamientos y para la interpretación de los resultados se aplicó un test paramétrico de varianza (ANOVA) en donde se comparó ambos tratamientos, T1 (Azolla) y T3 (Azolla-arroz), dando como resultado en sus medias (figura 4): 681,058633 mg/kg y 663,466667 mg/kg respectivamente, demostrando que existe en su concentración una diferencia mínima, por lo cual se concluye que la Azolla en ambos tratamientos tiene la misma capacidad de adsorción del metal.

Se determinó la capacidad de adsorción del cadmio en el arroz a través del software SPSS, realizando una comparación de medias estadísticas entre el T2 (arroz) = 526,3182 mg/kg y el T3 (Azolla-arroz) = 45,5738 mg/kg, demostrando que sí existe una diferencia significativa ya que en el T2 (arroz) tiene una elevada capacidad de adsorción que estando en presencia con la Azolla (T3), debido a que la Azolla es un helecho fitorremediadora que capta y acumula la mayor concentración del metal en su interior.

La capacidad de adsorción del cadmio entre la Azolla y el arroz se evaluó de acuerdo al análisis de varianza (ANOVA), donde se comparó: T1 (Azolla)(a), T3 (Azolla-arroz)(a), T2 (arroz)(b) y T3 (Azolla-arroz)(c), demostrando que al menos uno de los tratamientos sí presentó diferencia significativa en las medias, de los cuales, el arroz en el (T3)(c) adsorbió 45,3759 mg/kg del Cd, siendo la menor concentración de adsorción en todos los tratamientos, en cambio la Azolla en el (T1)(a) y el (T3)(a) adsorbió 681,058633 mg/kg y 663,466667 mg/kg respectivamente, por lo que se concluye que la Azolla es una especie fitorremediadora ideal para los cultivos, portadora de nutrientes, minerales y además de ser una tecnología amigable con el medio ambiente.

## RECOMENDACIONES

Es recomendable antes de comenzar a realizar el experimento determinar el pH adecuado para la solución contaminada por el metal a tratar, debido a que este se puede llegar a precipitarse en la solución ocasionando la repetición del proceso.

Utilizar las técnicas adecuadas para realizar las mediciones analíticas de las concentraciones de cadmio en los tejidos como la Azolla y semillas de arroz.

Para ejecutar el proceso de adsorción del metal pesado en cultivos de arroz es recomendable tener en cuenta la relación entre la concentración del contaminante (Cd) vs la cantidad de biomasa que son necesarios para el sistema, evitando que se dé la saturación y bajo rendimiento.

Es recomendable llevar a cabo un buen manejo en el proceso de incineración y adecuada disposición final del material de biomasa resultante del proceso de adsorción, para evitar la contaminación por el metal pesado.

Se debe tener en cuenta el clima durante el tiempo que dure la experimentación, debido a que la Azolla es un helecho acuático que se desarrolla mejor en un clima tropical húmedo con temperatura bajas entre 20 y 35 °C, superiores a ellas la Azolla se extingue, por ello es necesario aclimatarlas.

Es recomendable llevar la experimentación con otras concentraciones para poder determinar con exactitud cuál es la más eficiente en que la Azolla y el arroz lo puedan adsorber.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Zhu, X.; Chen, J.; Huang, S.; Li, W.; Penuelas, J.; Chen, J.; Zhou, F.; Zhang, W.; Li, G.; Liu, Z.; Ding, Y.; Wang, S.; Groenigen, K. J. Van. Manure Amendment Can Reduce Rice Yield Loss under Extreme Temperatures. *Commun. EARTH Environ.* **2022**, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s43247-022-00481-y>.
- (2) Kim, Y.; Chung, Y. S.; Lee, E.; Tripathi, P.; Heo, S.; Kim, K. H. Root Response to Drought Stress in Rice (*Oryza Sativa* L.). *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. <https://doi.org/10.3390/ijms21041513>.
- (3) Atiaga, O.; Ruales, J.; Nunes, L. M.; Otero, X. L. Toxic Elements in Soil and Rice in Ecuador. *Agronomy* **2021**, *11* (8). <https://doi.org/10.3390/agronomy11081594>.
- (4) Corporación Financiera Nacional. Ficha Sectorial. **2021**, *1* (1), 24.
- (5) Alengebawy, A.; Abdelkhalek, S. T.; Qureshi, S. R.; Wang, M. Q. Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. *Toxics* **2021**, *9* (3), 1–34. <https://doi.org/10.3390/toxics9030042>.
- (6) Pozo, W.; Sanfeliu, T.; Carrera, G. Metales Pesados En Humedales de Arroz En La Cuenca Baja Del Río Guayas. *MASKANA* **2011**, *2* (1), 17–30. <https://doi.org/10.18537/mskn.02.01.02>.
- (7) Tang, X.; Yi, L.; Song, Y.; He, X.; Fang, L.; Zhang, J. Changes in Root Exudates' Composition and Their Ability to Release Cadmium Adhered to Soil in Four Lettuce Varieties under Cadmium Stress. *Polish J. Environ. Stud.* **2021**, *30* (2), 1809–1816. <https://doi.org/10.15244/pjoes/126235>.
- (8) Guerrero, S. E. P.; Benítez, R. B.; Villa, R. A. S.; Corredor, J. A. G. Contaminación Del Agua Por Metales Pesados, Métodos de Análisis y Tecnologías de Remoción. Una Revisión. *Entre Cienc. e Ing.* **2020**, *14* (27), 9–18. <https://doi.org/10.31908/19098367.1734>.

- (9) Abdurrahman Abubakar Shawai, S. A Review on Heavy Metals Contamination in Water and Soil: Effects, Sources and Phytoremediation Techniques. *Int. J. Miner. Process. Extr. Metall.* **2017**, 2 (2), 21. <https://doi.org/10.11648/j.ijmpem.20170202.12>.
- (10) Razavipour, T.; Moghaddam, S. S.; Doaei, S.; Noorhosseini, S. A.; Damalas, C. A. Azolla (*Azolla Filiculoides*) Compost Improves Grain Yield of Rice (*Oryza Sativa* L.) under Different Irrigation Regimes. *Agric. Water Manag.* **2018**, 209, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2018.05.020>.
- (11) Hasan, M. K.; Shahriar, A.; Jim, K. U. Water Pollution in Bangladesh and Its Impact on Public Health. *Heliyon* **2019**, 5 (8), e02145. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02145>.
- (12) Walker, D. B.; Baumgartner, D. J.; Gerba, C. P.; Fitzsimmons, K. Surface Water Pollution. In *Environmental and Pollution Science*; Elsevier, 2019; pp 261–292. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814719-1.00016-1>.
- (13) Ashraf, S.; Ali, Q.; Zahir, Z. A.; Ashraf, S.; Asghar, H. N. Phytoremediation: Environmentally Sustainable Way for Reclamation of Heavy Metal Polluted Soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, 174, 714–727. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.02.068>.
- (14) Abdulraheem, F. S.; Al-Khafaji, Z. S.; Hashim, K. S.; Muradov, M.; Kot, P.; Shubbar, A. A. Natural Filtration Unit for Removal of Heavy Metals from Water. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* **2020**, 888 (1), 012034. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/888/1/012034>.
- (15) Haider, F. U.; Liqun, C.; Coulter, J. A.; Cheema, S. A.; Wu, J.; Zhang, R.; Wenjun, M.; Farooq, M. Cadmium Toxicity in Plants: Impacts and Remediation Strategies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2021**, 211, 111887. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111887>.

- (16) Genchi, G.; Sinicropi, M. S.; Lauria, G.; Carocci, A.; Catalano, A. The Effects of Cadmium Toxicity. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2020**, *17* (11), 3782. <https://doi.org/10.3390/ijerph17113782>.
- (17) Kumar, S.; Sharma, A. Cadmium Toxicity: Effects on Human Reproduction and Fertility. *Rev. Environ. Health* **2019**, *34* (4), 327–338. <https://doi.org/10.1515/REVEH-2019-0016/MACHINEREADABLECITATION/RIS>.
- (18) Caviedes Rubio, D. I.; Muñoz Calderon, R. A.; Perdomo Gualtero, A.; Rodríguez Acosta, D.; Sandoval, J. *Tratamientos para la Remoción de Metales Pesados Comúnmente Presentes en Aguas Residuales Industriales. Una Revisión - Dialnet*. Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5432290>.
- (19) Torres-Gonzales, Y.; Rojas-Carrizales, A. G.; Salas-Contreras, W. H.; Hinojosa-Benavides, R. A. Fitorremediación de Suelos Contaminados Por Metales Pesados. *Sci. Res. J. CIDI* **2021**, *1* (1), 25–36. <https://doi.org/10.53942/SRJCIDI.V1I1.43>.
- (20) Wang, L.; Hou, D.; Shen, Z.; Zhu, J.; Jia, X.; Ok, Y. S.; Tack, F. M. G.; Rinklebe, J. Field Trials of Phytomining and Phytoremediation: A Critical Review of Influencing Factors and Effects of Additives. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2020**, *50* (24), 2724–2774. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1705724>.
- (21) Wetle, R.; Bensko-Tarsitano, B.; Johnson, K.; Sweat, K. G.; Cahill, T. Uptake of Uranium into Desert Plants in an Abandoned Uranium Mine and Its Implications for Phytostabilization Strategies. *J. Environ. Radioact.* **2020**, 220–221, 106293. <https://doi.org/10.1016/J.JENVRAD.2020.106293>.
- (22) Farraji, H.; Robinson, B.; Mohajeri, P.; Abedi, T. Phytoremediation: Green Technology for Improving Aquatic and Terrestrial Environments. <https://doi.org/10.46266/njes.1002>.

- (23) Yang, W.; Zhao, F.; Ding, Z.; Shohag, M. J. I.; Wang, Y.; Zhang, X.; Zhu, Z.; Yang, X. Screening of 19 Salix Clones in Effective Phytofiltration Potentials of Manganese, Zinc and Copper in Pilot-Scale Wetlands. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.898020> **2019**, *20* (13), 1275–1283. <https://doi.org/10.1080/15226514.2014.898020>.
- (24) Mahajan, P.; Kaushal, J. Role of Phytoremediation in Reducing Cadmium Toxicity in Soil and Water. *J. Toxicol.* **2018**, *2018*. <https://doi.org/10.1155/2018/4864365>.
- (25) Bhat, S. A.; Bashir, O.; Ul Haq, S. A.; Amin, T.; Rafiq, A.; Ali, M.; Américo-Pinheiro, J. H. P.; Sher, F. Phytoremediation of Heavy Metals in Soil and Water: An Eco-Friendly, Sustainable and Multidisciplinary Approach. *Chemosphere* **2022**, *303* (January). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134788>.
- (26) Subašić, M.; Šamec, D.; Selović, A.; Karalića, E. Phytoremediation of Cadmium Polluted Soils: Current Status and Approaches for Enhancing. *Soil Syst.* **2022**, *6* (1), 1–21. <https://doi.org/10.3390/soilsystems6010003>.
- (27) Kafle, A.; Timilsina, A.; Gautam, A.; Adhikari, K.; Bhattarai, A.; Aryal, N. Phytoremediation: Mechanisms, Plant Selection and Enhancement by Natural and Synthetic Agents. *Environ. Adv.* **2022**, *8* (November 2021), 100203. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2022.100203>.
- (28) Liu, J.; Xu, H.; Jiang, Y.; Zhang, K.; Hu, Y.; Zeng, Z. Methane Emissions and Microbial Communities as Influenced by Dual Cropping of Azolla along with Early Rice. *Sci. Rep.* **2017**, *7* (January), 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep40635>.
- (29) Zulushova, A.; Emilbekova, D.; Isakova, U.; Shermatova, Z.; Manasov, N.; Suiunbekova, A.; Keneshbaeva, D.; Abdyrakhmanova, Z.; Shaimkulova, R.; Abdullaeva, Z. Students' Self-Organization and Problem Solving Competencies Formation in Explaining Water Resources Ecological Conditions and Bioecological Features of <math>Azolla\ Caroliniana</math>. *Creat. Educ.* **2021**, *12* (08), 1848–1857. <https://doi.org/10.4236/ce.2021.128140>.

- (30) Rezoogi, A. M.; Atiyah, A. H.; Mugheir, H. S.; Mouhamad, R. S. S. Bioaccumulation of (Ni, Cd, Pb, Cr, Hg, and Co) from Al-Rustomia Wastewater Using *A. Filiculoids*. In *Journal of Physics: Conference Series*; IOP Publishing, 2021; Vol. 1853, p 12019. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1853/1/012019>.
- (31) Kollah, B.; Patra, A. K.; Mohanty, S. R. Aquatic Microphylla *Azolla*: A Perspective Paradigm for Sustainable Agriculture, Environment and Global Climate Change. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23* (5), 4358–4369. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5857-9>.
- (32) Kösesakal, T.; Yildiz, M. Growth Performance and Biochemical Profile of *Azolla Pinnata* and *Azolla Caroliniana* Grown under Greenhouse Conditions. *Arch. Biol. Sci.* **2019**, *71* (3), 475–482. <https://doi.org/10.2298/ABS190131030K>.
- (33) Azab, E.; Soror, A. F. S. Physiological Behavior of the Aquatic Plant *Azolla* Sp. In Response to Organic and Inorganic Fertilizers. *Plants* **2020**, *9* (7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants9070924>.
- (34) Sundararaman, S.; Kumar, P. S.; Deivasigamani, P.; Jagadeesan, A. K.; Devaerakkam, M.; Al-Hashimi, A.; Choi, D. Assessing the Plant Phytoremediation Efficacy for *Azolla Filiculoides* in the Treatment of Textile Effluent and Redemption of Congo Red Dye onto *Azolla* Biomass. *Sustain.* **2021**, *13* (17). <https://doi.org/10.3390/su13179588>.
- (35) Pamintuan, K. R. S.; Virata, M. M. D.; Yu, M. F. C. Simultaneous Phytoremediation of  $\text{Cu}^{2+}$  and Bioelectricity Generation in a Plant-Microbial Fuel Cell Assembly Growing *Azolla Pinnata* and *Lemna Minor*. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **2019**, *344* (1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/344/1/012021>.
- (36) Leão, G. A.; de Oliveira, J. A.; Felipe, R. T. A.; Farnese, F. S. Phytoremediation of Arsenic-Contaminated Water: The Role of Antioxidant Metabolism of *Azolla Caroliniana* Willd. (Salviniales). *Acta Bot. Brasilica* **2017**, *31* (2), 161–168. <https://doi.org/10.1590/0102-33062016abb0407>.

- (37) Sabreena; Hassan, S.; Bhat, S. A.; Kumar, V.; Ganai, B. A.; Ameen, F. Phytoremediation of Heavy Metals: An Indispensable Contrivance in Green Remediation Technology. *Plants* **2022**, *11* (9). <https://doi.org/10.3390/plants11091255>.
- (38) Chen, Z.; Sun, Y.; Wang, G.; Zhang, Y.; Zhang, Q.; Zhang, Y.; Li, J.; Wang, Y. De Novo Biosynthesis of C-Arabinosylated Flavones by Utilization of Indica Rice C-Glycosyltransferases. *Bioresour. Bioprocess.* **2021**, *8* (1). <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00404-3>.
- (39) Jiang, Y.; Qian, H.; Huang, S.; Zhang, X.; Wang, L.; Zhang, L.; Shen, M.; Xiao, X.; Chen, F.; Zhang, H.; Lu, C.; Li, C.; Zhang, J.; Deng, A.; Van Groenigen, K. J.; Zhang, W. Acclimation of Methane Emissions from Rice Paddy Fields to Straw Addition. *Sci. Adv.* **2019**, *5* (1), 1–10. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aau9038>.
- (40) Acevedo, M. A.; Castrillo, W. A.; Belmonte, U. C. Origen, Evolución y Diversidad Del Arroz. *Agron. Trop.* **2006**, *56* (2), 151–170.
- (41) Liu, C.; Guo, B.; Li, H.; Fu, Q.; Li, N.; Lin, Y.; Xu, G. Azolla Incorporation under Flooding Reduces Grain Cadmium Accumulation by Decreasing Soil Redox Potential. *Sci. Rep.* **2021**, *11* (1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85648-x>.

## ANEXOS

Asociación Azolla - arroz	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Arroz (agua contaminada con Cd)	3	,333	,57735	,33333	-1,1009	1,7676	,00	1,00
Azolla –arroz (agua contaminada con Cd)	3	71,7000	6,66408	3,84751	55,1455	88,2545	65,30	78,60
Azolla – arroz (agua no contaminada)	3	48,2333	41,78209	24,12290	-55,5591	152,0258	,00	73,30
Total	9	40,0889	37,94613	12,64871	10,9209	69,2569	,00	78,60

*Anexo 1. Descripción de la germinación del arroz.  
Fuente: Elaboración propia*

Asociación Azolla - arroz	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Arroz (agua contaminada con Cd)	3	,3333	
Azolla –arroz (agua no contaminada)	3	48,2333	48,2333
Azolla – arroz (agua contaminada con Cd)	3		71,9100
Sig.		,053	,284

*Anexo 2. Prueba Duncan de la germinación del arroz.  
Fuente: Elaboración Propia*

Asociación Azolla - arroz	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Arroz (agua contaminada con Cd)	36	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Azolla –arroz (agua contaminada con Cd)	36	1,0936	,56485	,09414	,9025	1,2847	,31	2,80
Azolla – arroz (agua no contaminada)	36	,981	,60007	,10001	,7250	1,1311	,15	2,60
Total	108	,6739	,67524	,06497	,5451	,8027	,00	2,80

**Anexo 3.** Descripción de la radícula del arroz.

Fuente: Elaboración Propia

Asociación Azolla - arroz	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Arroz (agua contaminada con Cd)	36	,0000	
Azolla –arroz (agua no contaminada)	36		,9281
Azolla – arroz (agua contaminada con Cd)	36		1,0936
Sig.		1,000	,143

**Anexo 4.** Prueba Duncan del largo de la radícula del arroz.

Fuente: Elaboración propia

Asociación Azolla - arroz	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Arroz (agua contaminada con Cd)	36	,0000	,00000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
Azolla –arroz (agua contaminada con Cd)	36	3,2500	3,98300	,66383	1,9023	4,5977	,00	12,00
Azolla – arroz (agua no contaminada)	36	6,0833	3,98121	,66353	4,7363,	7,4304	,00	19,00
Total	108	3,1111	4,07542	,39216	2,3337	3,8885	,00	19,00

**Anexo 5.** Descripción del epicótilo del arroz.

Fuente: Elaboración propia.

Asociación Azolla - arroz	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Arroz (agua contaminada con Cd)	36	,0000		
Azolla –arroz (agua contaminada con Cd)	36		3,2500	
Azolla – arroz (agua no contaminada)	36			6,0833
Sig.		1,000	1,000	1,000

**Anexo 6.** Prueba de Duncan del epicótilo del arroz.

Fuente: Elaboración propia

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	p-value	Mean-Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Cadmio (mg/kg)	Equal variances assumed	,021	,891	1,681	4	,168	17,5919667	10,4637303	-11,4600061	46,6439394
	Equal variances not assumed			1,681	3,989	,168	17,5919667	10,4637303	-11,4905516	46,6744949

*Anexo 7. Prueba de muestra independiente del Cd en el arroz.  
Fuente: Elaboración propia*

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	p-value	Mean-Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Cadmio (mg/kg)	Equal variances assumed	2,502	,189	30,803	4	,000	480,7443333	15,6070022	437,4123484	524,076318
	Equal variances not assumed			30,803	2,648	,000	480,7443333	15,6070022	427,1275800	534,361086

*Anexo 8. Prueba de muestra independiente del Cd en Azolla.  
Fuente: Elaboración propia*

Asociación Azolla - arroz	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Arroz (agua contaminada con Cd)	3	681,058633	13,1419509	7,5875089	648,412218	713,705049	667,1048	693,2007
Arroz (agua contaminada con Cd)	3	526,318200	25,0278985	14,4498639	464,145454	588,490946	498,8513	574,8345
Azolla – arroz (agua contaminada con Cd)	3	663,466667	12,4803078	7,2055091	632,463863	694,469470	651,2739	676,2159
Azolla – arroz (agua contaminada con Cd)	3	45,573867	10,214688	5,8974530	20,199174	70,948559	35,4422	55,8696
Total	12	479,104342	269,1699161	77,7026618	308,081936	650,126747	35,4422	693,2007

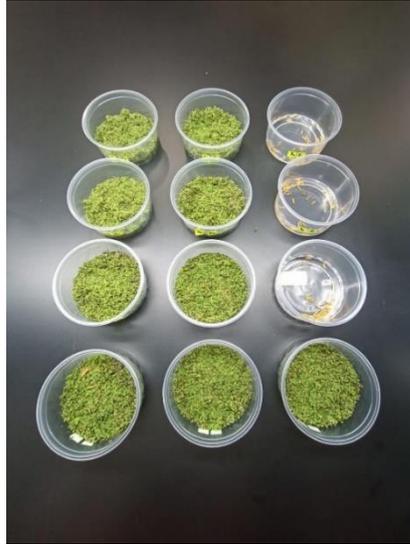
*Anexo 9. Descripción del Cd entre la Azolla y el arroz.*

*Fuente: Elaboración propia*

Asociación Azolla - arroz	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Azolla – arroz (agua contaminada con Cd)	3	45,573867		
Arroz (agua contaminada con Cd)	3		526,318200	
Azolla – arroz (agua contaminada con Cd)	3			663,46667
Azolla (agua contaminada con Cd)	3			681,058633
Sig.		1,00	1,00	,222

*Anexo 10. Prueba de Duncan del Cd entre la Azolla y el arroz.*

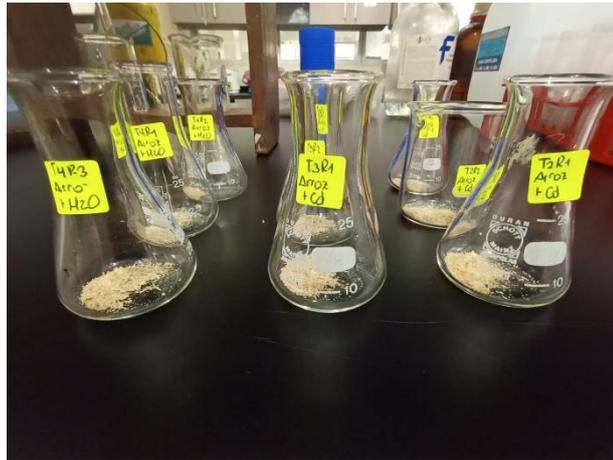
*Fuente: Elaboración propia*



*Anexo 11. Unidades experimentales de todos los tratamientos  
Fuente: Elaboración propia*



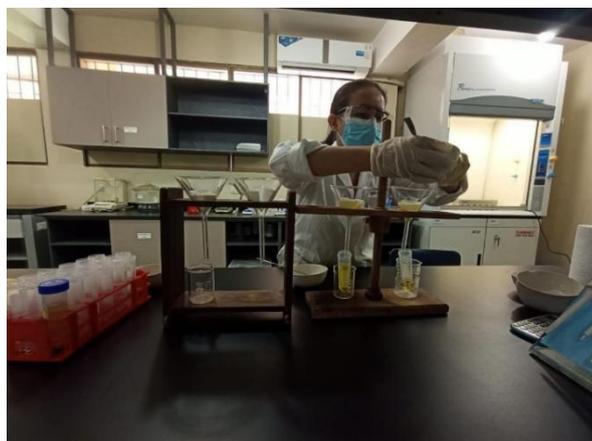
*Anexo 12. Peso previo de la muestra para el proceso de digestión  
Fuente: Elaboración propia*



*Anexo 13. Muestras para el proceso de digestión  
Fuente: Elaboración propia*



*Anexo 14. Muestra en planchas de calentamiento con 10 ml de HNO<sub>3</sub> al 70%  
Fuente: Elaboración propia*



*Anexo 15. Proceso de filtración de cada muestra  
Fuente: Elaboración propia*