



universidad  
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**RELACIÓN ENTRE LA DIVERSIDAD DE  
ESPECIES DE MACRÓFITOS  
ACUÁTICOS Y LA ELIMINACIÓN DE  
METALES PESADOS**

(RELATIONSHIP BETWEEN AQUATIC  
MACROPHYTE SPECIES DIVERSITY AND  
HEAVY METALS REMOVAL)

Autor: Candela Vázquez Lagos

**GRADO EN BIOTECNOLOGÍA**

**JUNIO, 2021**



## ÍNDICE

1. Introducción .....	1
2. Materiales y Métodos .....	3
3. Resultados y discusión .....	6
3.1. Efecto de la riqueza de especies sobre la concentración de metales en el agua.....	6
3.2. Influencia de la densidad inicial de vegetación en la eliminación de metales. ....	8
3.3. Estudio de las diferencias entre especies.....	10
3.3.1. Diferencias entre especies en cuanto a la eliminación de metales en el agua. ....	10
3.3.2. Diferencias entre especies en cuanto a la acumulación de metales en hojas y raíces. .....	12
3.3.2.1. Análisis de la concentración de metales en hojas .....	12
3.3.2.2. Acumulación de metales en raíces .....	14
4. Conclusiones .....	18
5. Referencias .....	19



## RESUMEN

Las elevadas concentraciones de metales pesados presentes en el medio suponen un grave problema ambiental debido a su alta toxicidad para los seres vivos. Los macrófitos acuáticos acumulan metales pesados en sus tejidos, pudiendo ser empleados en la creación de humedales artificiales destinados a fitorremediación.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la influencia de la diversidad de macrófitos en la eliminación de metales pesados, comparando la actividad de 8 especies de macrófitos propias de humedales frente a diferentes concentraciones de Cu, Cd, Pb y Zn. Para ello, se cultivaron dos densidades iniciales de plantas (8 o 34 plantas/m<sup>2</sup>) en tanques con 1, 4 u 8 especies y los datos obtenidos se sometieron a un estudio estadístico. Las diferencias en las concentraciones de metales entre cubetas con diferente riqueza y/o densidad no fueron estadísticamente significativas, lo que sugiere que no son factores relevantes para su uso en fitorremediación. La acumulación fue superior en raíces que en hojas, siendo Zn el metal más acumulado. Respecto a la existencia de diferencias entre especies, las cantidades más elevadas de Cd, Cu y Zn fueron halladas en raíces de *S. neglectum*, junto con una alta concentración de Zn también en las hojas. Aunque los macrófitos estudiados pueden ser empleados en la fitorremediación de metales pesados, *P. australis*, *S. neglectum* e *I. pseudacorus* han demostrado tener un mayor rendimiento de eliminación de metales.

**Palabras clave:** Biodiversidad; Fitorremediación; Macrófitos acuáticos; Metales pesados.

## ABSTRACT

The presence of high concentrations of heavy metals in the environment is a serious environmental problem due to its high levels of toxicity towards living beings. Aquatic macrophytes, due to their ability to accumulate heavy metals in their tissues, can be used to create artificial wetlands for phytoremediation.

The aim of this experiment is to assess the influence of macrophytes diversity on the removal of heavy metals, by comparing the activity of 8 wetland macrophyte species against different concentrations of Cu, Cd, Pb, Zn. Two initial plant densities (8 or 34 plants/m<sup>2</sup>) were grown in tanks with 1, 4 or 8 species and a statistical study of the obtained data was performed. The differences in metal concentrations between buckets with different richness and/or density were not statistically significant, which suggests that they are not relevant factors when it comes to its use in phytoremediation. The amount of heavy metals was higher in roots than in shoots, with Zn being the most accumulated. Regarding the existence of differences between species, the highest quantities of Cd, Cu and Zn were found in roots of *S. neglectum*, accompanied by a high Zn concentration in the shoots. Although these macrophytes can be used for the phytoremediation of heavy metals, *P. australis*, *S. neglectum* and *I. pseudacorus* have shown a higher metal removal performance.

**Key words:** Aquatic macrophytes; Biodiversity; Heavy metal; Phytoremediation.



## 1. Introducción

Los metales pesados son elementos naturales que se encuentran en la corteza terrestre y cuya concentración en exceso produce importantes problemas de contaminación; su movilización puede producirse tanto por actividades humanas, como por algunos procesos naturales. El aumento de la industrialización y la urbanización ha llevado a una mayor liberación de estos elementos al medio, convirtiendo la contaminación ambiental por metales pesados en un problema global (Rahman and Singh, 2020). Los ecosistemas acuáticos, como ríos, lagos, arroyos, etc., son los principales afectados por este tipo de contaminación debido a la descarga de afluentes industriales (Upadhyay *et al.*, 2018). Dado que no son biodegradables, los metales pesados se acumulan en el ecosistema y se transfieren a través de la cadena alimenticia, lo que tiene un impacto negativo en el medioambiente y la salud humana al ser tóxicos en altas concentraciones (Sharma *et al.*, 2015).

Existen diversos métodos físico-químicos disponibles actualmente para la remediación de aguas y suelos, como pueden ser la precipitación alcalina, el intercambio iónico, la adsorción, la electrodiálisis o la ósmosis reversa. Estas tecnologías convencionales sufren limitaciones como un coste elevado, trabajo intensivo o alteración de las propiedades del ecosistema (Fu and Wang, 2011).

El uso de plantas y sus microorganismos asociados para reducir la concentración o efectos tóxicos de los contaminantes en el medioambiente es denominado fitorremediación (Greipsson, 2011). Se trata de una estrategia de biorremediación que ha ganado importancia en las últimas décadas por ser una tecnología rentable, eficiente, respetuosa con el medioambiente, aplicable *in situ* e impulsada por la energía solar. La fitorremediación es una alternativa ecológica a los procedimientos de ingeniería, aunque posee una aplicación limitada en zonas en las que las elevadas concentraciones de los contaminantes son tóxicas para las plantas (Basile *et al.*, 2012; Ali *et al.*, 2013).

Los macrófitos son un componente esencial en los humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales y aguas industriales contaminadas con metales (Stottmeister *et al.*, 2003). Estas plantas acuáticas han demostrado ser eficientes en la remoción de una amplia gama de metales pesados en ambientes acuáticos (Hidalgo *et al.*, 2005). Concretamente, son capaces de extraer metales tóxicos del agua y los sedimentos a través de



sus raíces y acumularlos; plantas diferentes transfieren estos metales de la raíz a los brotes en distintos grados (Kassaye *et al.*, 2016). Las características que hacen propicias a los macrófitos para su uso en fitorremediación son un rápido crecimiento, una elevada producción de biomasa, un sistema de raíces bien desarrollado y la capacidad de acumular contaminantes en sus tejidos aéreos (Khan *et al.*, 2000; Rezanian *et al.*, 2016).

La comparación de diversos estudios referentes al rendimiento de eliminación de metales pesados ha permitido establecer la existencia de diferencias entre especies, convirtiendo la selección de la especie a emplear en un factor importante en el diseño de humedales artificiales (Brisson and Chazarenc, 2009; Schück and Greger, 2020). Son buenos candidatos los macrófitos nativos que crecen a cortas distancias de las zonas contaminadas y aquellos capaces de crecer en un humedal local con especies endémicas (Ali *et al.*, 2013; Guittonny-Philippe *et al.*, 2015).

Otro factor a tener en cuenta en el diseño de humedales artificiales es la biodiversidad de los mismos (Hansson *et al.*, 2005). Existe una gran variedad de experimentos que relacionan la biodiversidad con el funcionamiento de grupos tróficos y ecosistemas, alterando la eficiencia con la que las comunidades captan recursos y los transforman en biomasa. Un análisis de dichos estudios muestra como la disminución de la riqueza de especies afecta negativamente al funcionamiento del ecosistema, acompañada de un descenso en la producción de biomasa. La magnitud de este efecto está determinada por la identidad de las especies cuya riqueza ha disminuido, siendo consistente dentro de un mismo grupo trófico y tipo de ecosistema (Cardinale *et al.*, 2006). Por otro lado, la biodiversidad de los humedales artificiales influye directamente en la calidad del agua y se puede mejorar mediante un diseño y una gestión del ecosistema adecuados (Hsu *et al.*, 2011). Al aumentar el número de especies de plantas, también aumenta la complejidad de sus interacciones y, con ello, la resiliencia del ecosistema. Además, las especies de plantas poseen diferente morfología y actividad; lo que sugiere que la selección y gestión de la diversidad de macrófitos para la creación de humedales multiespecíficos, permitiría maximizar la fitoextracción de mezclas de metales (Guittonny-Philippe *et al.*, 2014).

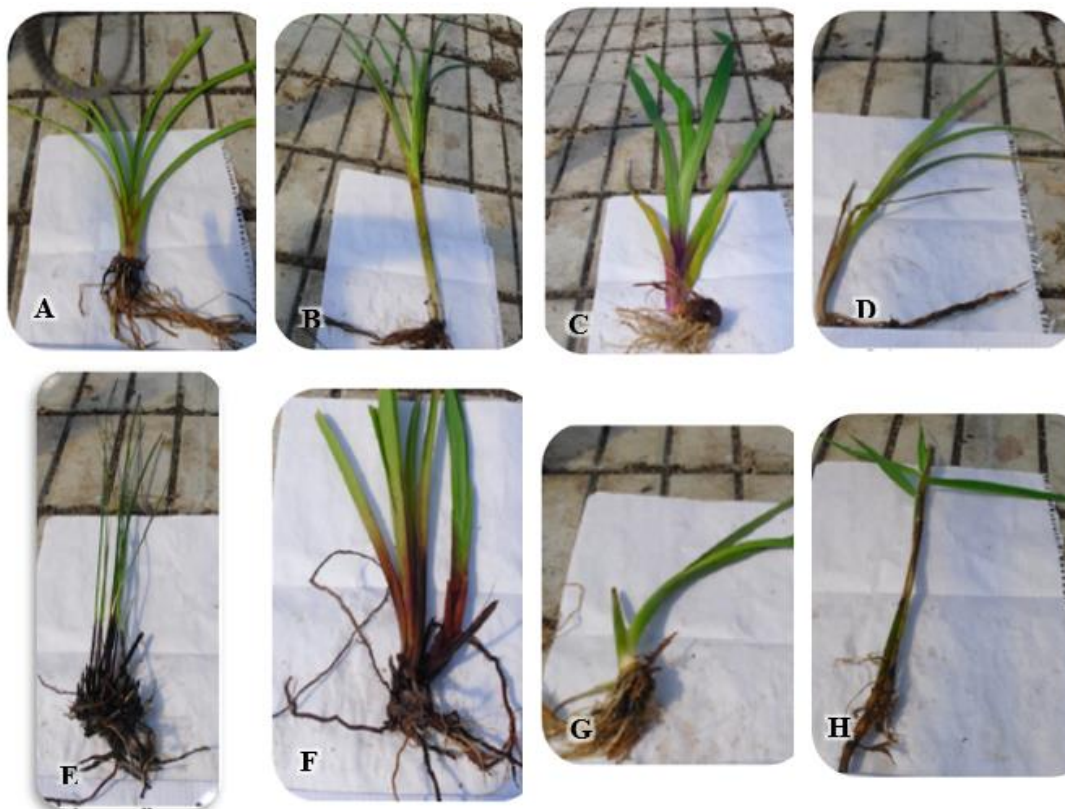
El presente trabajo tiene como objetivo estudiar la influencia de la riqueza de especies y la densidad de macrófitos acuáticos en la eliminación de los metales cobre, cadmio, plomo y



zinc; además, se comprobará la diferencia en la capacidad de eliminación de las 8 especies macrófitas empleadas, y las partes de las plantas donde se produce la mayor acumulación de dichos metales.

## 2. Materiales y Métodos

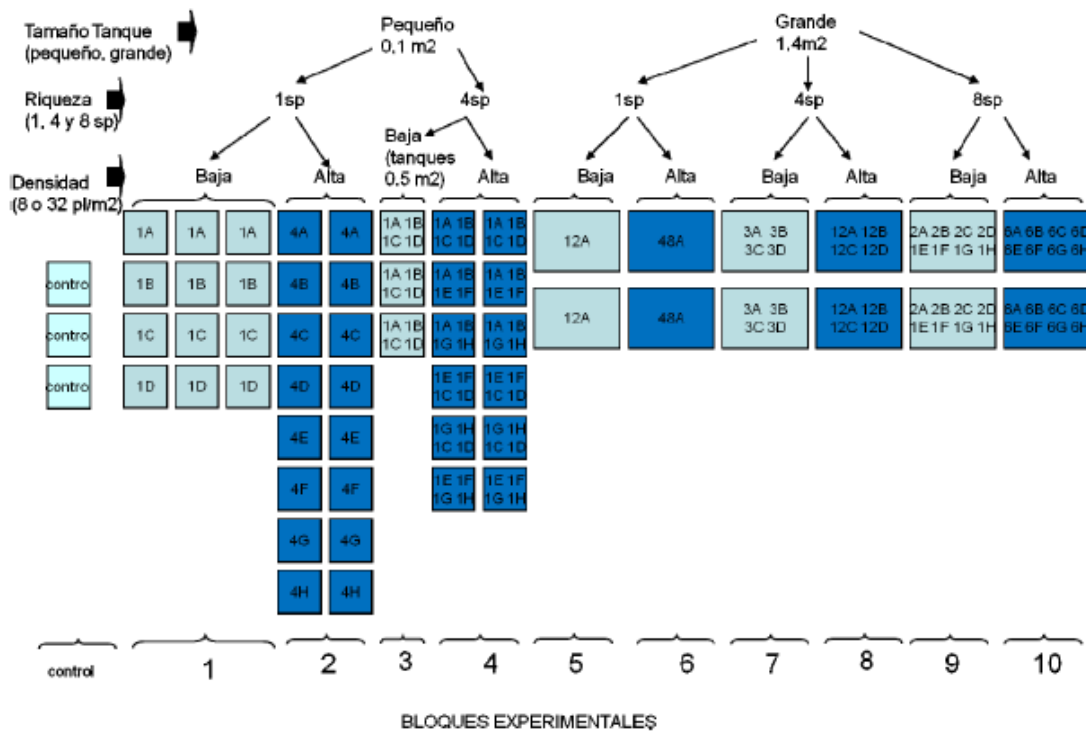
El desarrollo de la fase experimental tuvo lugar en las instalaciones del Jardín Botánico Atlántico de Gijón, concretamente en un invernadero bajo una malla de sombreado. En total, se utilizaron 8 especies diferentes de macrófitas acuáticas: *Sparganium neglectum*, *Carex rostrata*, *Iris pseudacorus*, *Scirpus maritimus*, *Juncus effusus*, *Carex pendula*, *Typha angustifolia* y *Phragmites australis*. Estas especies macrófitas fueron seleccionadas, principalmente, por su capacidad de fitoextracción de metales pesados; así como por ser habituales de los humedales, poseer una elevada producción de biomasa y ser fisiológicamente muy similares entre sí. Los plantones empleados, que pueden observarse en la Figura 1, fueron recolectados en las instalaciones del Jardín Botánico Atlántico (especies A, C, F, G y H) y en humedales asturianos naturales (C, D y E).



**Figura 1.** Especímenes de: *Sparganium neglectum* (A), *Carex rostrata* (B), *Iris pseudacorus* (C), *Scirpus maritimus* (D), *Juncus effusus* (E), *Carex pendula* (F), *Typha angustifolia* (G) y *Phragmites australis* (H).



Se emplearon 58 tanques de distinto tamaño y superficie: 43 tanques de 0.12 m<sup>2</sup>, 3 tanques de 0.5 m<sup>2</sup> y 12 tanques de 1.44 m<sup>2</sup>. Para el soporte de cada uno de los pies de planta en su correspondiente tanque se empleó un rollo de malla de forma cilíndrica de aproximadamente 20 cm de diámetro, dichos soportes fueron introducidos también en los controles. El experimento sigue el diseño multifactorial reflejado en la Figura 2, que permite evaluar tanto la riqueza específica (1, 4, 8 especies) como el efecto de la densidad de plantas (8 o 34 pie de planta/m<sup>2</sup>). Diferentes tamaños de tanques fueron utilizados en función de la densidad de plantación para evitar una fuerte competencia por el espacio.



**Figura 2.** Esquema experimental seguido en la realización del experimento. Los números se corresponden con el número de pies de planta presentes en tanque, la letra con la especie vegetal y el color con la densidad de vegetación (azul claro para 8 plantas/m<sup>2</sup> y azul oscuro para 34 plantas/m<sup>2</sup>).

El experimento está compuesto por los siguientes bloques:

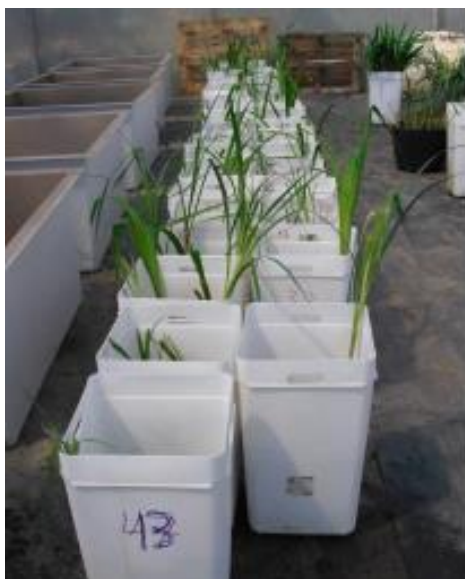
- 0 – Control: tanques pequeños (0.12 m<sup>2</sup>) sin plantas, con agua y 4 soportes, por triplicado; total 3 tanques.
- 1 – Tanques pequeños (0.12 m<sup>2</sup>) con un pie de planta (baja densidad) para 4 especies diferentes por triplicado; total 12 tanques.



- 2 – Tanques pequeños (0.12 m<sup>2</sup>) con 4 pies de planta de la misma especie (alta densidad) para las 8 especies del experimento por duplicado; total 16 tanques.
- 3 – Tanques pequeños (0.5 m<sup>2</sup>) con 4 pies de planta de especies diferentes (*S. neglectum*, *C. rostrata*, *I. pseudacorus* y *S. maritimus*), por triplicado; total 3 tanques (baja densidad).
- 4 – Tanques pequeños (0.12 m<sup>2</sup>) con 4 pies de planta distintos entre sí, combinando las 8 especies de 6 formas diferentes; se realiza por duplicado en un total de 12 tanques (alta densidad).
- 5 – Tanque grande (1.44 m<sup>2</sup>) con 12 pies de planta de la misma especie (*S. neglectum*); se realiza por duplicado (baja densidad).
- 6 – Tanque grande (1.44 m<sup>2</sup>) con 48 pies de planta de la misma especie (*S. neglectum*); se realiza por duplicado (alta densidad).
- 7 – Tanque grande (1.44 m<sup>2</sup>) con 3 pies de planta de cada una de las siguientes especies: *S. neglectum*, *C. rostrata*, *I. pseudacorus* y *S. maritimus*; se realiza por duplicado con 12 plantas/tanque (baja densidad).
- 8 – Tanque grande (1.44 m<sup>2</sup>) con 12 pies de planta de cada una de las siguientes especies: *S. neglectum*, *C. rostrata*, *I. pseudacorus* y *S. maritimus*; se realiza por duplicado con 48 plantas/tanque (alta densidad).
- 9 – Tanque grande (1.44 m<sup>2</sup>) con 2 pies de planta de *S. neglectum*, *C. rostrata*, *I. pseudacorus* y *S. maritimus*; y un pie de planta de *J. effusus*, *C. pendula*, *T. angustifolia* y *P. australis*; se realiza por duplicado con 12 plantas/tanque (baja densidad).
- 10 – Tanques grandes (1.44 m<sup>2</sup>) con 6 pies de planta de cada una de las 8 especies; por duplicado con 48 plantas/tanque (alta densidad).

En todos los tanques se añadió una lámina de agua de 25 cm de altura, el volumen exacto añadido a cada uno de ellos fue medido el primer día. Los tanques pequeños (0.12 m<sup>2</sup>, 0.5 m<sup>2</sup>) se distribuyeron en filas paralelas, como puede observarse en la Figura 3, y la distribución espacial de los distintos tratamientos se realizó al azar; la misma disposición se empleó con los tanques grandes de 1.44 m<sup>2</sup>.





**Figura 3.** Fotografía de los tanques pequeños de 0.12 m<sup>2</sup> y 0.5 m<sup>2</sup> distribuidos en dos filas paralelas, y con los pies de planta ya colocados.

A lo largo del desarrollo de esta fase experimental se tomaron diversas medidas referentes a parámetros físico-químicos, evolución de nutrientes, evapotranspiración, datos de biomasa, muestras de agua y muestras de hojas y raíces. Estas últimas son especialmente interesantes en lo referente al análisis de metales en agua y al estudio de la acumulación y translocación de estos en plantas. Para poder estudiar las tasas de eliminación de metales, se añadió una cantidad similar y conocida del metal los días 0 y 8, y se midieron las concentraciones presentes los días 1, 4, 7 y 9, 11, 14. Los metales se encontraban en una solución madre y las concentraciones medias añadidas de Cu, Cd, Pb y Zn fueron de 2.04, 1.01, 2.5 y 5.26 mg/l, respectivamente, siendo estas las concentraciones finales en los tanques el día 0. Las medidas de concentración de metal obtenidas el día 0 son idénticas a las concentraciones añadidas, mientras que el día 8 la concentración de metal en los tanques es ligeramente superior a la añadida ese día porque no se ha llegado a eliminar todo el metal presente inicialmente en la cubeta. Una vez se recogieron los datos necesarios, se pudo proceder al análisis estadístico que se llevó a cabo empleando el programa Past v3.

Antes de realizar el análisis de varianza (ANOVA), se comprobó la normalidad y homogeneidad de varianzas. El análisis post-hoc de Tukey se utilizó para evaluar las diferencias significativas en las concentraciones de metal entre las especies de plantas del experimento. En aquellos casos con varianzas no homogéneas, se utilizó el método no paramétrico Kruskal-Wallis, y la U-Mann-Whitney como test post-hoc.

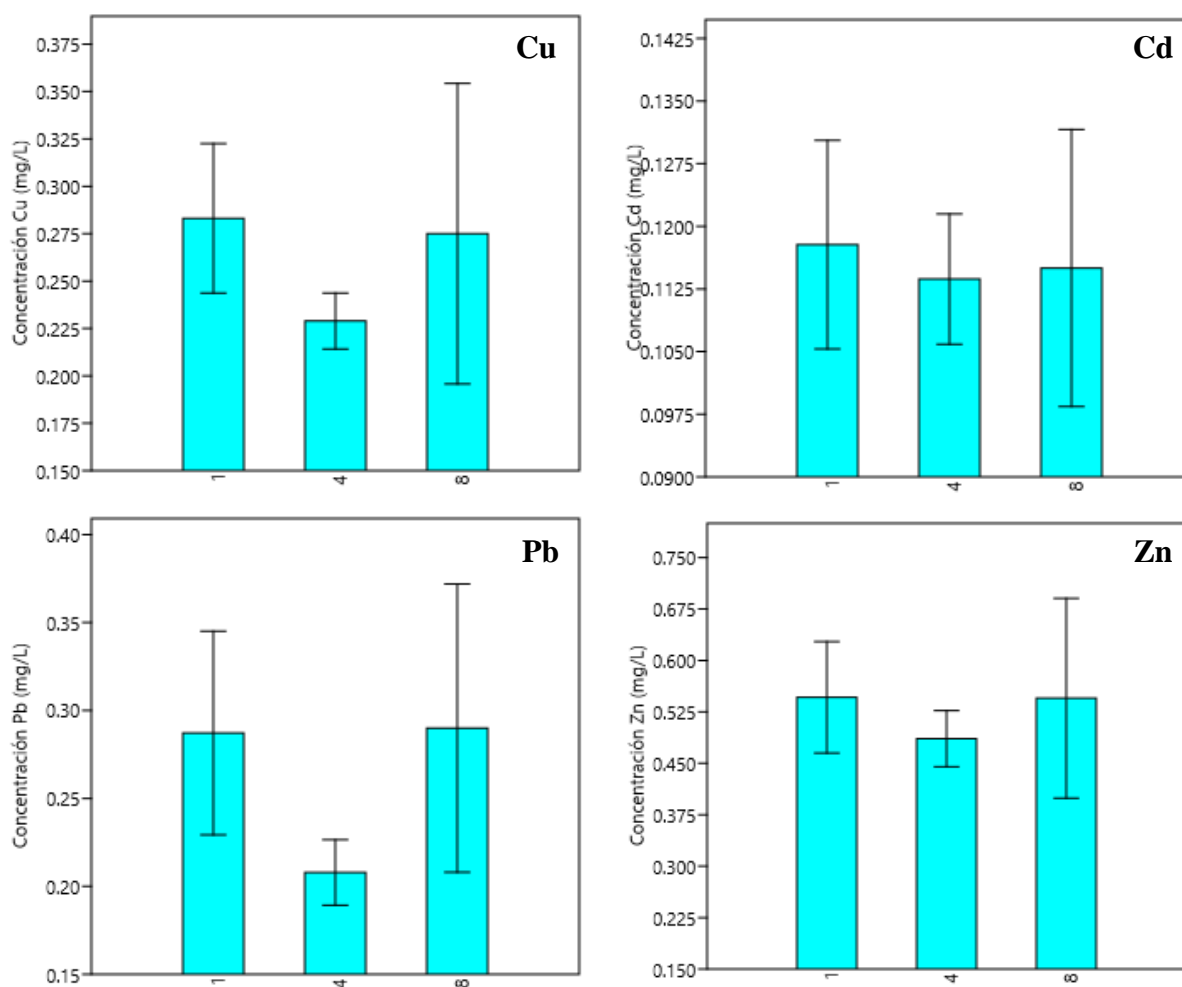
### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Efecto de la riqueza de especies sobre la concentración de metales en el agua.

Uno de los principales objetivos de este estudio es determinar el efecto de la riqueza de especies sobre la eliminación de metales en el agua, con el fin de comprobar si la eliminación de metales es mayor cuantas más especies diferentes hay en el tanque. Las concentraciones de



metales en el agua al cabo de 7 días en función de la riqueza de especies se indican en la Figura 4. En las gráficas de Cu y Pb se advierte una menor concentración de metales en las cubetas con una riqueza de 4 especies, aunque las diferencias existentes entre los distintos grados de riqueza no fueron estadísticamente significativas (Test de ANOVA, Cu:  $p=0.7583$  // Cd:  $p=0.9701$  // Pb:  $p=0.756$  // Zn:  $p=0.469$ ).



**Figura 4.** Variación en la concentración (mg/L) de cada metal (Cu, Cd, Pb o Zn.) en función de la riqueza de especies el día 7 de muestreo.

De acuerdo con los datos analizados, la riqueza de especies no parece estar relacionada con la eliminación de metales, pues la menor concentración que se aprecia en las cubetas con cuatro especies no es significativa. Si tenemos en cuenta que se optó por estudiar un número elevado de especies (8) para recrear las condiciones de elevada biodiversidad de los humedales naturales, cabría esperar diferencias significativas en la concentración de metal entre las distintas riquezas. Sin embargo los resultados no coinciden con los datos aportados

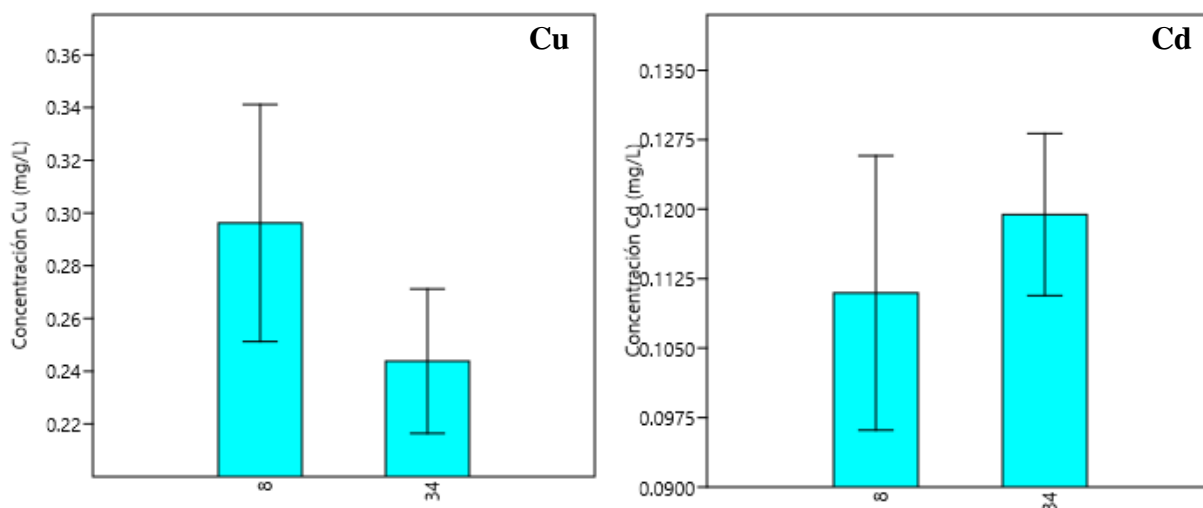


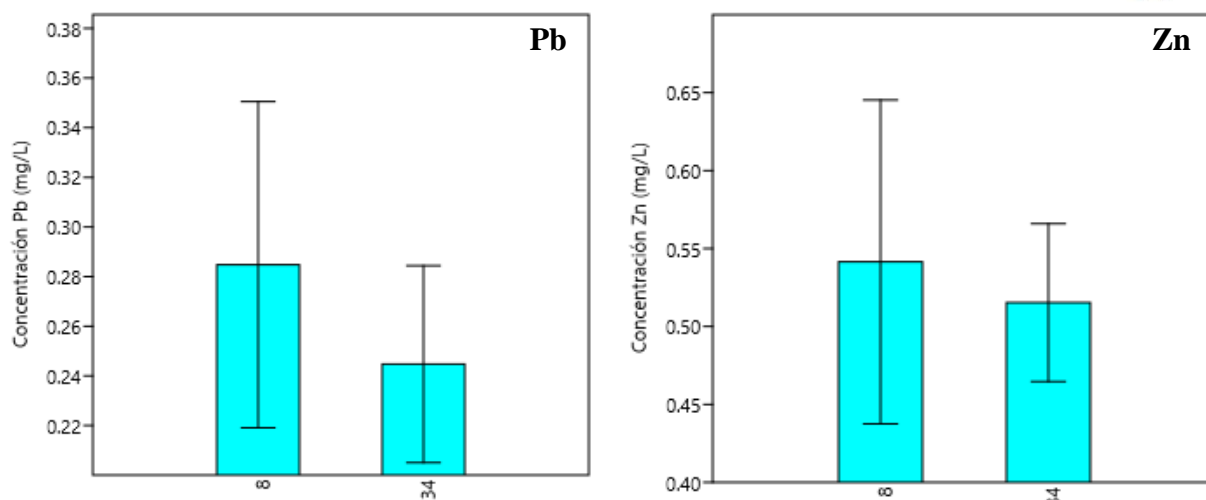
por diversos estudios que sostienen que una elevada riqueza de especies supera en eficacia de eliminación a los monocultivos de especies (Coleman *et al.*, 2001; Kumari and Tripathi, 2015; Rezania *et al.*, 2019). En dichos estudios se observó una mejora en el rendimiento de eliminación de las cubetas con la presencia de dos o más especies diferentes frente a las cubetas con una sola.

### 3.2. Influencia de la densidad inicial de vegetación en la eliminación de metales.

En este caso se busca determinar la influencia potencial de la densidad inicial de vegetación sobre la concentración de metales en el agua, es decir, la existencia de diferencias en las concentraciones finales de metales entre cubetas plantadas a baja y alta densidad.

En la Figura 5 se puede observar como la concentración de Cu, Pb y Zn en las cubetas con mayor densidad de plantas es ligeramente menor, pero estas diferencias no son tan marcadas como para resultar estadísticamente significativas. De forma opuesta al resto de metales, la concentración de Cd en agua aumenta con la densidad de vegetación (Figura 5), este incremento tampoco resulta estadísticamente significativo (Test de ANOVA, Cu:  $p=0.2953$  // Cd:  $p=0.6013$  // Pb:  $p=0.5813$  // Zn:  $p=0.8021$ ).





**Figura 5.** Variación en la concentración (mg/L) de metal (Cu, Cd, Pb o Zn.) en función de la densidad (pies de planta/m<sup>2</sup>).

En el estudio de Ventura *et al.* (2021), la densidad de siembra inicial de 5 plantas/m<sup>2</sup> aumentó en 1.5 años hasta 74 plantas/m<sup>2</sup>, siendo asociada a una reducción en la materia orgánica y sólidos en suspensión. El incremento en la densidad de plantas de *T. latifolia*, con el consecuente crecimiento de su sistema de raíces, supuso una mayor capacidad de retención; las tendencias positivas en la eliminación de metales, se vieron favorecidas por la existencia de un pH alcalino. Las medidas realizadas para el presente trabajo tuvieron lugar en un periodo de 14 días; si se tiene en cuenta la duración del estudio mencionado previamente, se puede suponer que las diferencias observadas, pese a no ser significativas, podrían llegar a serlo aumentando el tiempo de desarrollo del experimento.

El principal inconveniente que aparece al intentar determinar la influencia de la densidad de vegetación en la eliminación de metales es que únicamente se ha considerado la que existía inicialmente. Es posible que las densidades finales de biomasa fuesen muy similares independientemente de la densidad inicial y, por ello, no existan diferencias significativas en las concentraciones finales de metal entre cubetas sembradas a baja y alta densidad. Los resultados obtenidos indican que la densidad inicial de vegetación no influye en la eliminación de metales, pero la relación entre densidad de vegetación y absorción de metales podría demostrarse de haber tenido en cuenta la densidad final de plantas.

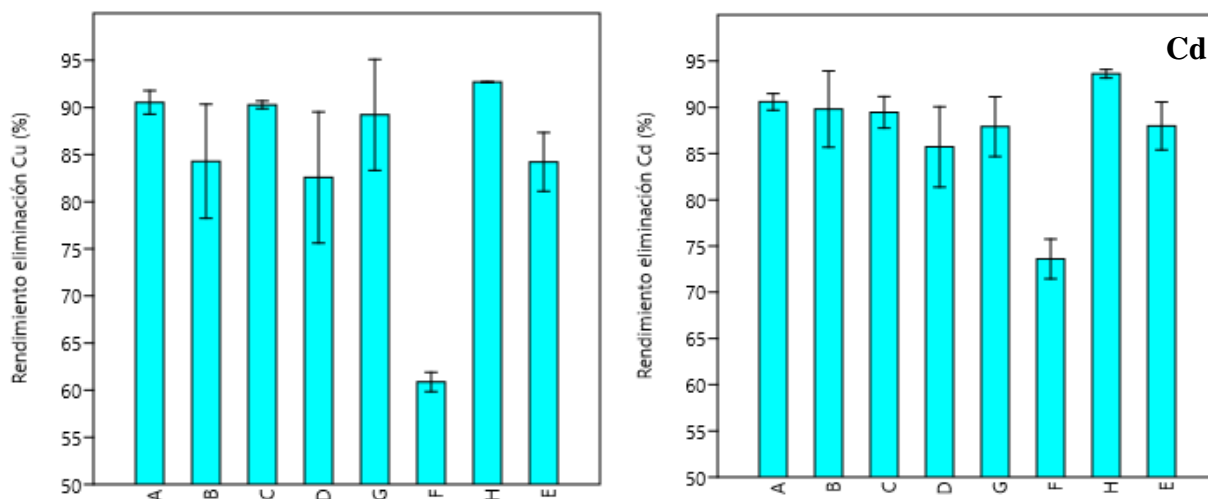


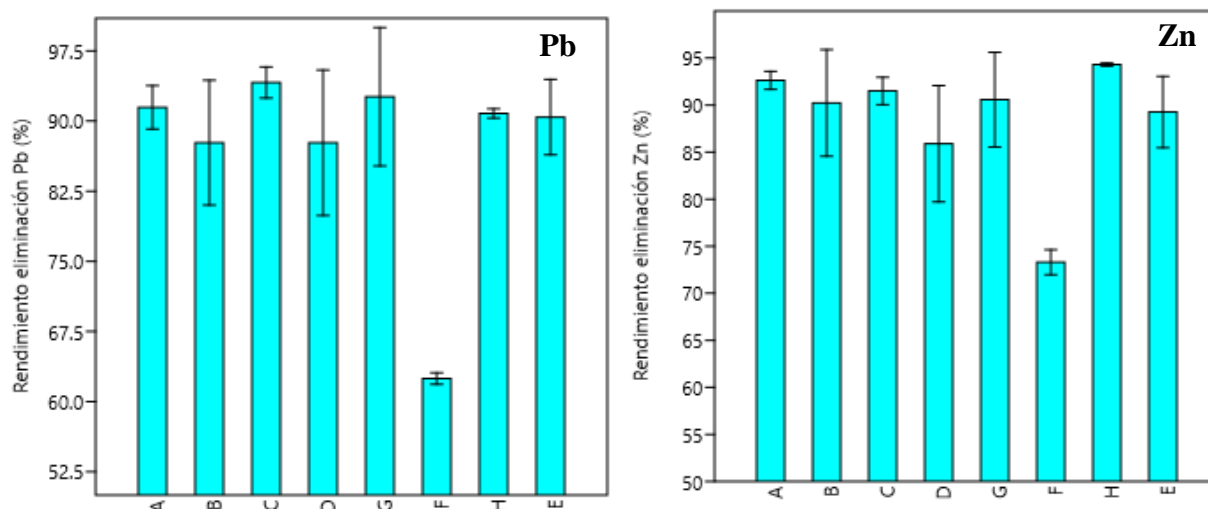
### 3.3. Estudio de las diferencias entre especies.

#### 3.3.1. Diferencias entre especies en cuanto a la eliminación de metales en el agua.

La existencia de diferencias entre las especies empleadas en la eliminación de metales facilita la selección de aquellas con mayor rendimiento para su uso en la creación de humedales artificiales dedicados a la fitorremediación y para la realización de estudios futuros. El ANOVA realizado comparando la eficacia de cada especie indica que no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre especies en el rendimiento de eliminación de Cd ( $p=0.0614$ ), Pb ( $p=0.08187$ ) y Zn ( $p=0.1803$ ), pero sí en el de Cu ( $p=0.01763$ ) (Fig.6).

Las diferencias significativas en la eliminación de Cu se produjeron entre *C. pendula* y las plantas *S. neglectum*, *I. pseudacorus* y *P. australis*; siendo el rendimiento de la primera especie menor al de las otras tres. En la Figura 6, puede apreciarse que los rendimientos de eliminación de metales fueron elevados, próximos al 90%, exceptuando aquellos correspondientes a *C. pendula*. Para dicha especie los rendimientos de eliminación se mantuvieron entre el 60 y el 70 %.





**Figura 6.** Rendimiento de eliminación (%) de Cu, Cd, Pb y Zn el día 7 de muestro para cada una de las 8 especies empleadas en el estudio. Siendo *Sparganium neglectum* (A), *Carex rostrata* (B), *Iris pseudacorus* (C), *Scirpus maritimus* (D), *Juncus effusus* (E), *Carex pendula* (F), *Typha angustifolia* (G) y *Phragmites australis* (H).

Estos hallazgos concuerdan con los datos de Schüick y Greger (2020), quienes obtuvieron para *J. effusus*, *P. australis*, *I. pseudacorus*, *T. angustifolia* y *C. rostrata* unos rendimientos de eliminación de metales pesados del orden del 98-100 % tras 5 días de exposición a las aguas contaminadas. En ese mismo estudio destacaron por su efectiva eliminación de los cuatro metales *Carex riparia* y *Carex pseudocyperus*, que no han sido analizadas en este trabajo.

Las especies de macrófitos más comúnmente estudiadas son *Typha latifolia*, *P. australis*, *Scirpus validus* y *T. angustifolia* (Brisson and Chazarenc, 2009). En el análisis de una mezcla de *P. australis* y *T. latifolia*, Rezania *et al.* (2016) obtuvieron rendimientos de eliminación de metales del 61-78 %, con mayor acumulación de los mismos por parte de *P. australis*. Mientras que en el estudio realizado por Kumari y Tripathi (2015) de las mismas especies se obtuvieron rendimientos al combinarlas del 41-63 %, siendo ligeramente superior la capacidad de eliminación de *T. latifolia*. Los resultados, pese a ser favorables, no son tan positivos como los obtenidos en el presente estudio para ambas especies por separado. Esto podría indicar que la capacidad de eliminación de ciertos macrófitos puede verse afectada por la presencia de otras especies.



### 3.3.2. Diferencias entre especies en cuanto a la acumulación de metales en hojas y raíces.

La acumulación de metales por parte de la planta está relacionada con la capacidad de la misma para eliminar los metales presentes en el agua (Guittonny-Philippe *et al.*, 2014). La acumulación de la mayoría de metales en plantas acuáticas es mayor en raíces que en otros órganos y, generalmente, las concentraciones varían considerablemente en función del tipo de especie, tejido y metal (Zaranyika and Ndapwadza, 1995; Eid *et al.*, 2020). Esto concuerda con los hallazgos del presente estudio, ya que para las ocho especies consideradas la acumulación de metales en las raíces fue superior que la acumulación en hojas, como se describe a continuación.

#### 3.3.2.1. Análisis de la concentración de metales en hojas:

El estudio estadístico permite determinar que no existen diferencias significativas en las concentraciones de Cu ( $p=0.1069$ ) y Pb ( $p=0.2363$ ) acumuladas en las hojas de las diferentes especies, mientras que sí se producen diferencias significativas en la acumulación de Cd ( $p=0.01196$ ) y Zn ( $p=0.00424$ ) entre distintas especies (Fig. 7).

En el caso del Cd, la acumulación de este metal en las hojas de *J. effusus* es significativamente superior a la de *I. pseudacorus*, *S. maritimus*, *T. angustifolia* y *P. australis*; la acumulación de Cd en las hojas de *C. pendula* y *S. neglectum* es significativamente superior a la de las especies *I. pseudacorus* y *T. angustifolia*. En lo que respecta a la acumulación de Zn en las hojas, *S. neglectum*, *C. pendula*, *J. effusus* y *P. australis* acumulan significativamente más metal que *I. pseudacorus*; *S. neglectum*, *C. pendula* y *J. effusus* tienen una acumulación significativamente superior a la de *T. angustifolia*; y *S. neglectum* posee, además, una capacidad de acumulación de Zn significativamente superior a la de *S. maritimus*. Las especies que presentan una mayor acumulación de Cd y Zn en las hojas son *J. effusus*, *S. neglectum* y *C. pendula*; pudiendo apreciarse en la Figura 7 como la acumulación de Cu y Pb es también elevada para estas dos últimas especies.

La concentración de metales en las hojas de *C. pendula* es elevada, destacando frente a las demás en lo referente al Cu, Cd y Zn, como se refleja en las gráficas correspondientes de la Figura 7. Teniendo en cuenta que los rendimientos más bajos en eliminación de metales



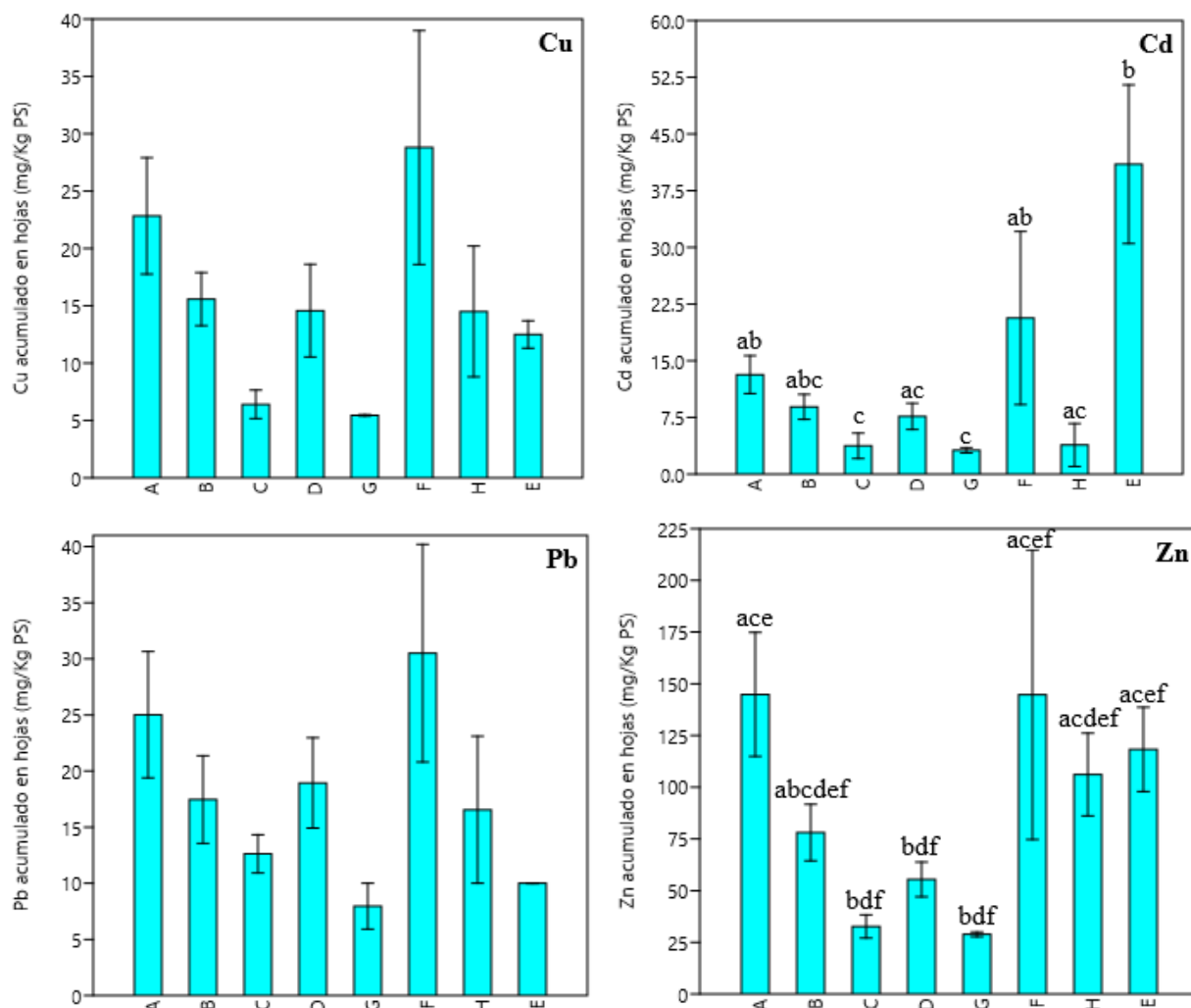
corresponden a *C. pendula*, puede formularse la hipótesis de que la elevada acumulación de metales pesados en las hojas ha influido negativamente en la capacidad de absorción por parte de la planta. Los metales acumulados en los tejidos vegetales pueden tener efectos tóxicos, especialmente cuando se trasladan a otros tejidos, apreciándose una reducción en la biomasa y el crecimiento de las raíces (Sneller *et al.*, 1999; Weis and Weis, 2004). Las concentraciones de metales empleadas podrían ser tóxicas para *C. pendula*, explicando así la disminución en su rendimiento respecto a las otras especies empleadas. Otra hipótesis plausible es que *C. pendula* tenga una biomasa más pequeña que el resto de especies y no sea capaz de eliminar metales del agua con la misma eficacia, pero sí sea la que más metal concentra por kg de planta. Pese a haber sido considerada adecuada para la limpieza de aguas contaminadas con metales en el estudio de Yadav *et al.* (2011), su menor rendimiento frente al resto de especies puede dar lugar a que se recomiende excluir a *C. pendula* de futuros experimentos de remediación.

Las elevadas concentraciones de metales en las hojas de *S. neglectum*, acompañadas de unos rendimientos de eliminación siempre superiores al 90%, la convierten en una candidata ideal para la eliminación de metales en la construcción de humedales artificiales. Otra especie que ha destacado por la acumulación de Cd y Zn en sus hojas es *J. effusus*, siendo sus rendimientos de eliminación más discretos. En el trabajo de Ladislav *et al.* (2013) es considerada como una planta no-hiperacumuladora capaz de eliminar de forma significativa metales pesados disueltos y almacenarlos en sus tejidos, sin embargo, los resultados obtenidos no la hacen destacar por su eficiencia sobre las otras especies del proyecto.

Observando las gráficas en la Figura 7, se puede apreciar que la acumulación de metales en las hojas de *I. pseudacorus* y *T. angustifolia* se mantiene siempre inferior a la del resto de plantas; aún así, este hecho va acompañado de unos rendimientos de eliminación adecuados. Esto se debe a que la densidad de hojas de estas especies es muy elevada, como tienen mucha biomasa eliminan metales de forma eficiente, pero la concentración por kg de hoja es menor.

Las variaciones en la localización tisular de los metales pesados pueden atribuirse a la distinta organización anatómica y estilo de vida de las especies (Basile *et al.*, 2012), lo que justifica las diferencias existentes en la ubicación de los metales entre especies con un rendimiento similar.





**Figura 7.** Metal (mg) presente en las hojas por kg de Peso Seco (PS) en cada especie tras finalizar el experimento. En cada una de las gráficas se indican las cantidades acumuladas de uno de los metales estudiados (Cu, Cd, Pb y Zn). Las especies son *Sparganium neglectum* (A), *Carex rostrata* (B), *Iris pseudacorus* (C), *Scirpus maritimus* (D), *Juncus effusus* (E), *Carex pendula* (F), *Typha angustifolia* (G) y *Phragmites australis* (H). La ausencia de letra indica que no existen diferencias con ninguna especie.

### 3.3.2.2. Acumulación de metales en raíces:

El estudio estadístico realizado permite determinar la existencia de diferencias significativas en las concentraciones de Cu ( $p=0.02422$ ), Cd ( $p=3.93E-06$ ) y Zn ( $p=0.04784$ ) acumuladas en las raíces de diferentes especies, mientras que no existen diferencias significativas en lo que respecta a la acumulación de Pb ( $p= 0.9267$ ) en las raíces entre las distintas especies (Fig. 8).

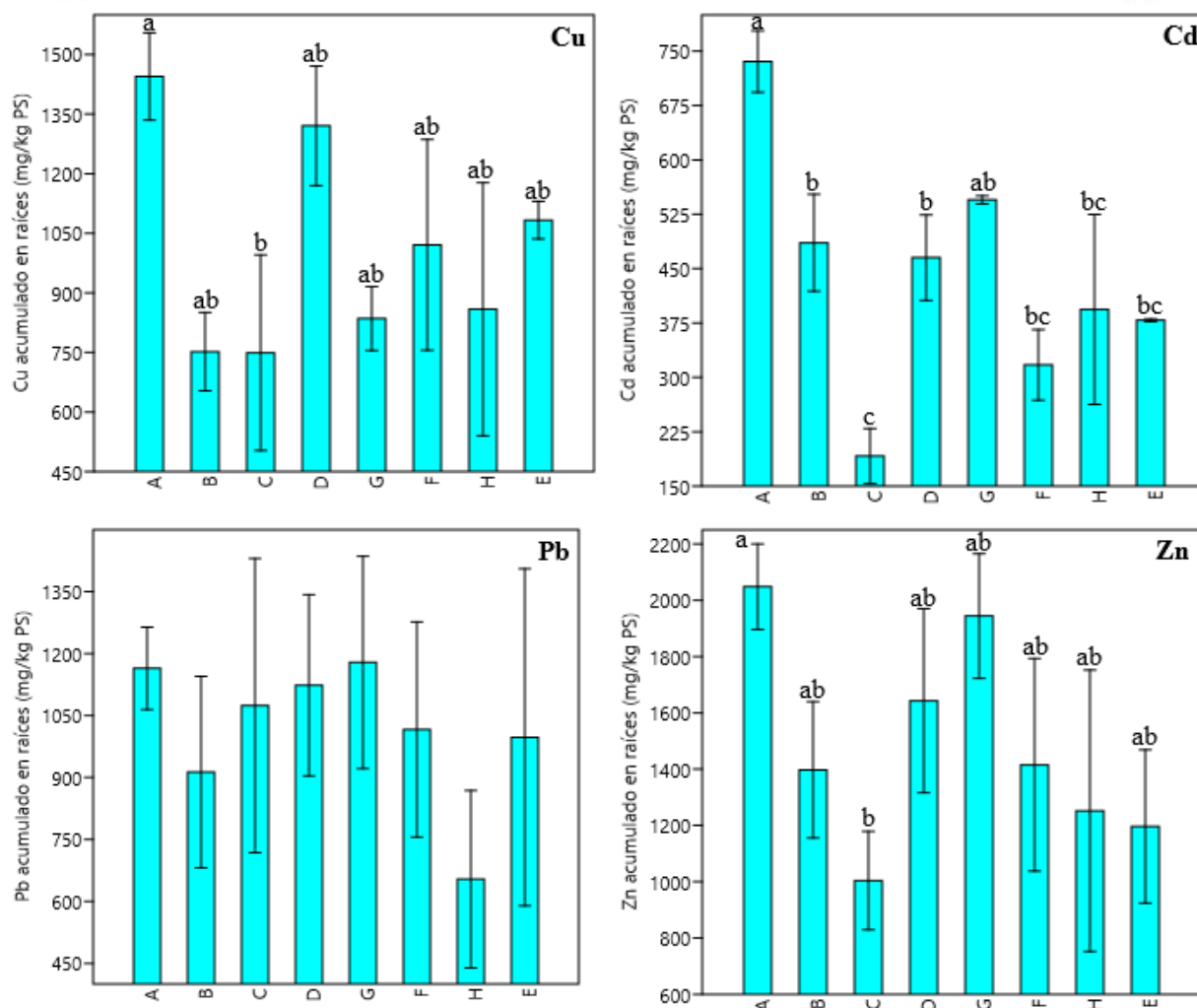
En el caso del Cu y el Zn las diferencias significativas fueron halladas entre el par de especies *S. neglectum* - *I. pseudacorus*, lo que quiere decir que tanto la acumulación de Cu



como la de Zn en las raíces de *S. neglectum* es significativamente superior a la acumulación que se produce en las raíces de *I. pseudacorus*. Las diferencias que pueden apreciarse entre el resto de las especies en las gráficas correspondientes de la Figura 8 no resultan estadísticamente significativas. En lo que respecta a la acumulación de Cd, la existencia de diferencias significativas se produce entre *S. neglectum* y las especies *C. rostrata*, *I. pseudacorus*, *S. maritimus*, *C. pendula*, *P. australis* y *J. effusus*, siendo la primera especie la que acumula significativamente más metal; también se aprecian diferencias significativas en la menor presencia de Cd en *I. pseudacorus* respecto a *C. rostrata*, *S. maritimus* y *T. angustifolia*, además de la ya mencionada con *S. neglectum*. Las otras diferencias en la acumulación de Cd apreciables en la Figura 8 no resultan estadísticamente significativas, como ocurre con el Cu y el Zn.

Las elevadas cantidades de Cd, Cu y Zn en raíces de *S. neglectum*, se combinan con la alta concentración de Zn hallada también en sus hojas. El contenido en Zn de las plantas aumenta con el aumento en los niveles de Zn en el medio (Fawzy *et al.*, 2012); este metal fue añadido a las cubetas en una concentración superior al resto de metales, lo que explica que haya sido el más acumulado por las plantas. No existen estudios previos relacionados con la aplicación de *S. neglectum* en biorremediación, pero en este trabajo destaca por tener una elevada acumulación de metales en sus tejidos sin que el rendimiento disminuya. Los resultados la sitúan como la especie más adecuada para la eliminación de metales en aguas contaminadas y una buena candidata para ser empleada en fitorremediación.

Si se observan las gráficas de la Figura 8, también destaca *T. angustifolia* con concentraciones de metal notablemente elevadas en sus raíces que contrastan con las encontradas en sus hojas, inferiores al resto de las especies debido a la elevada biomasa de la parte aérea en esta planta. Por ello, este macrófito también puede ser recomendado como adecuado para futuros estudios.



**Figura 8.** Metal (mg) presente en las raíces por kg de Peso Seco (PS) en cada especie tras finalizar el experimento. En cada una de las gráficas se indican las cantidades acumuladas de uno de los metales estudiados (Cu, Cd, Pb y Zn). Las especies son *Sparganium neglectum* (A), *Carex rostrata* (B), *Iris pseudacorus* (C), *Scirpus maritimus* (D), *Juncus effusus* (E), *Carex pendula* (F), *Typha angustifolia* (G) y *Phragmites australis* (H). La ausencia de letra indica que no existen diferencias con ninguna especie.

*P. australis* ha sido utilizada ampliamente en humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales (Weis and Weis, 2004; Eid *et al.*, 2020), tanto por su capacidad de extracción de metales pesados como por la alta frecuencia de este carrizo en los humedales españoles (Cirujano Bracamonte *et al.*, 2014). Se trata de la planta que más capacidad ha mostrado para eliminar metales del agua en este trabajo (Figura 6), aunque su bioacumulación de los mismos por kg de peso seco no es elevada debido a que la biomasa de sus raíces es muy grande. Resultados similares fueron obtenidos por Schück and Greger (2020) y justificados en base a la morfología de esta especie, que tiende a reducir su exposición a los contaminantes. Las principales ventajas de *P. australis* en fitorremediación se deben a su capacidad para



prosperar en climas variados y su tolerancia a altos niveles de metales (Huang *et al.*, 2017). Al no tratarse de una concentración de metales excesivamente elevada, el uso de especies autóctonas adaptadas específicamente al clima de la zona de del futuro humedal puede resultar más recomendable, siendo *P. australis* una candidata ideal.

Existe una extensa bibliografía relacionada con el uso de macrófitos acuáticos para la eliminación de metales pesados, pero el número de estudios que han empleado alguna de las especies y metales seleccionados en este trabajo no es muy elevado. En general, los resultados obtenidos sobre la concentración de metales en las hojas son similares a los encontrados por otros autores. En lo que respecta a la acumulación de metales en las raíces, existen mayores diferencias con los datos obtenidos por otros estudios (Tabla 1).

**Tabla 1.** Valor medio de concentración de metales (expresados en mg kg<sup>-1</sup> PS) encontrados en hojas y raíces en este trabajo y en los de otros autores para cada especie.

Especie	Metal	Hojas	Raíces	Hojas otros autores	Raíces otros autores	Autores
<i>P. australis</i>	Cu	14.50	858.90	6.78	135.60	Kumari y Tripathi (2015)
	Cd	3.85	393.75	1.06	21.20	
	Pb	16.55	653.75	2.59	51.80	
	Zn	106.15	1252.10	51.06	1021.10	
<i>T. angustifolia</i>	Cu	5.45	835.40	11.25	35.6	Wu <i>et al.</i> (2014)
	Cd	3.15	544.90	4.67	-	
	Pb	7.95	1178.70	5.75	13.6	
<i>J. effusus</i>	Cd	41.00	378.80	1.7	5.3	Ladislav <i>et al.</i> (2013)
	Zn	118.25	1196.30	80	57	
<i>C. pendula</i>	Pb	30.50	1016.15	37.50	375.00	Yadav <i>et al.</i> (2011)
<i>C. rostrata</i>	Cu	15.58	751.98	16.00	118.40	Stoltz and Greger (2002)
	Cd	8.90	485.68	2.60	42.80	
	Pb	17.46	913.00	12.90	1169.00	
	Zn	78.06	1397.43	212.00	1631.00	



Ladislav *et al.* (2013) realizaron su experimento con *J. effusus* durante 16 semanas. Emplearon aguas residuales que alcanzaban los valores umbrales de contaminación impuestos en Europa para que puedan ser liberadas al medio, por lo que las concentraciones de metales presentes inicialmente no son tan elevadas. Existe, por tanto, una gran diferencia entre los valores obtenidos por estos autores y los de este trabajo. Por otro lado, Stoltz y Greger (2002) obtuvieron unas concentraciones bastante similares a las del presente estudio para *C. rostrata*, destacando el caso del Cd que fue añadido a una concentración muy inferior (0.12  $\mu\text{M}$ ) y, por ello, no fue hallado en concentraciones tan elevadas. La menor concentración de metales halladas en las raíces de las plantas en estos estudios podría deberse a diferencias en las concentraciones añadidas, a un menor desarrollo radicular de los macrófitos por las condiciones del experimento o a la existencia de elevadas tasas de transporte del metal a la parte aérea.

#### 4. Conclusiones

El análisis de datos realizado en ese estudio indica que la riqueza y la densidad de macrófitos acuáticos no están relacionadas de forma estadísticamente significativa con la eliminación de metales pesados, es decir, no se ha logrado demostrar que la riqueza o densidad inicial de plantas influyan en la eliminación. La consideración de la densidad de vegetación final podría ayudar a explicar los resultados obtenidos.

Las especies con un mayor rendimiento de eliminación de metales han demostrado ser *P. australis*, *S. neglectum* e *I. pseudacorus*; por lo que se recomienda su uso en futuros estudios y en la construcción de humedales artificiales. *P. australis* es la planta con mayor capacidad de eliminación de metales del estudio, lo que concuerda con el extendido uso de la misma en fitorremediación. La segunda especie con mejor rendimiento de eliminación, *S. neglectum*, se caracterizó por la acumulación de concentraciones elevadas de metales en hojas y raíces. Por último, *T. angustifolia* elimina metales de forma eficiente gracias a su elevada biomasa de hojas que causa que las concentraciones de metales halladas en sus tejidos sean reducidas.



## Referencias

- Ali, H., Khan, E. and Sajad, M. A. (2013) "Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications", *Chemosphere*. Elsevier Ltd, pp. 869–881. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.01.075.
- Basile, A., Sorbo, S., Conte, B., Castaldo Cobianchi, R., Trinchella, F., Capasso, C. and Carginale, V. (2012) "Toxicity, accumulation, and removal of heavy metals by three aquatic macrophytes", *International Journal of Phytoremediation*. Taylor & Francis Group, 14(4), pp. 374–387. doi:10.1080/15226514.2011.620653.
- Brisson, J. and Chazarenc, F. (2009) "Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: Should we pay more attention to macrophyte species selection?", *Science of the Total Environment*. Elsevier, 407(13), pp. 3923–3930. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.05.047.
- Cardinale, B. J., Srivastava, D. S., Duffy, J. E., Wright, J. P., Downing, A. L., Sankaran, M. and Jouseau, C. (2006) "Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems", *Nature* 443(7114), pp. 989–92.
- Cirujano Bracamonte, S., Meco Molina, A., García Murillo, P. and Chirino Argenta, M. (2014) *Flora acuática española. Hidrófitos vasculares*.
- Coleman, J., Hench, K., Garbutt, K., Sexstone, A., Bissonnette, G. and Skousen, J. (2001) "Treatment of domestic wastewater by three plant species in constructed wetlands", *Water, Air, and Soil Pollution*. Springer, 128(3–4), pp. 283–295. doi:10.1023/A:1010336703606.
- Eid, E. M., Galal, T. M., Sewelam, N. A., Talha, N. I. and Abdallah, S. M. (2020) "Phytoremediation of heavy metals by four aquatic macrophytes and their potential use as contamination indicators: a comparative assessment", *Environmental Science and Pollution Research*. Springer, 27(11), pp. 12138–12151. doi:10.1007/s11356-020-07839-9.
- Fawzy, Manal Ahmed, El-Sayed Badr, N., El-Khatib, Ahmed, Abo-El-Kassem, A., Fawzy, M A, Badr, E.-S., El-Khatib, A and Abo-El-Kassem, A (2012) "Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in River Nile", *Environ Monit Assess*, 184, pp. 1753–1771. doi:10.1007/s10661-011-2076-9.
- Fu, F. and Wang, Q. (2011) "Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review", *Journal of Environmental Management*. Academic Press, pp. 407–418. doi:10.1016/j.jenvman.2010.11.011.
- Greipsson, S. (2011) "Phytoremediation", *Nature Education Knowledge*, 3(10), p. 7.
- Guittonny-Philippe, A., Masotti, V., Höhener, P., Boudenne, J. L., Viglione, J. and Laffont-Schwob, I. (2014) "Constructed wetlands to reduce metal pollution from industrial catchments in aquatic Mediterranean ecosystems: A review to overcome obstacles and suggest potential solutions", *Environment International*. Elsevier Ltd, pp. 1–16. doi:10.1016/j.envint.2013.11.016.
- Guittonny-Philippe, A., Petit, M. E., Masotti, V., Monnier, Y., Malleret, L., Coulomb, B., Combroux, I., Baumberger, T., Viglione, J. and Laffont-Schwob, I. (2015) "Selection of wild macrophytes for use in constructed wetlands for phytoremediation of contaminant mixtures", *Journal of Environmental Management*. Academic Press, 147, pp. 108–123. doi:10.1016/j.jenvman.2014.09.009.
- Hansson, L.-A., Bronmark, C., Anders Nilsson, P. and Abjornsson, K. (2005) "Conflicting demands on wetland ecosystem services: nutrient retention, biodiversity or both?", *Freshwater Biology*. John Wiley & Sons, Ltd, 50(4), pp. 705–714. doi:10.1111/j.1365-2427.2005.01352.x.
- Hidalgo, J. C., Montano, J. J., Marco, Y. and Estrada, S. (2005) "Recientes aplicaciones de la depuración de aguas residuales con plantas acuáticas", *Theoria*, 14(1), pp. 17–25.
- Hsu, C. Bin, Hsieh, H. L., Yang, L., Wu, S. H., Chang, J. S., Hsiao, S. C., Su, H. C., Yeh, C. H., Ho, Y. S. and Lin, H. J. (2011) "Biodiversity of constructed wetlands for wastewater treatment", *Ecological Engineering*. Elsevier, 37(10), pp. 1533–1545. doi:10.1016/j.ecoleng.2011.06.002.
- Huang, X., Zhao, F., Yu, G., Song, C., Geng, Z. and Zhuang, P. (2017) "Removal of Cu, Zn, Pb, and Cr from



Yangtze Estuary Using the *Phragmites australis* Artificial Floating Wetlands", *BioMed Research International*. Hindawi Limited, 2017. doi:10.1155/2017/6201048.

Kassaye, Y. A., Skipperud, L., Einset, J. and Salbu, B. (2016) "Aquatic macrophytes in Ethiopian Rift Valley lakes; Their trace elements concentration and use as pollution indicators", *Aquatic Botany*. Elsevier B.V., 134, pp. 18–25. doi:10.1016/j.aquabot.2016.06.004.

Khan, A. G., Kuek, C., Chaudhry, T. M., Khoo, C. S. and Hayes, W. J. (2000) "Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation", *Chemosphere*. Pergamon, 41(1–2), pp. 197–207. doi:10.1016/S0045-6535(99)00412-9.

Kumari, M. and Tripathi, B. D. (2015) "Effect of *Phragmites australis* and *Typha latifolia* on biofiltration of heavy metals from secondary treated effluent", *International Journal of Environmental Science and Technology*. Center for Environmental and Energy Research and Studies, 12(3), pp. 1029–1038. doi:10.1007/s13762-013-0475-x.

Ladislav, S., Gérente, C., Chazarenc, F., Brisson, J. and Andrès, Y. (2013) "Performances of two macrophytes species in floating treatment wetlands for cadmium, nickel, and zinc removal from urban stormwater runoff", *Water, Air, and Soil Pollution*. Kluwer Academic Publishers, 224(2). doi:10.1007/s11270-012-1408-x.

Rahman, Z. and Singh, V. P. (2020) "Bioremediation of toxic heavy metals (THMs) contaminated sites: concepts, applications and challenges", *Environmental Science and Pollution Research*. Springer, pp. 27563–27581. doi:10.1007/s11356-020-08903-0.

Rezania, S., Park, J., Rupani, P. F., Darajeh, N., Xu, X. and Shahrokhishahraki, R. (2019) "Phytoremediation potential and control of *Phragmites australis* as a green phytomass: an overview", *Environmental Science and Pollution Research*. Springer Verlag, pp. 7428–7441. doi:10.1007/s11356-019-04300-4.

Rezania, S., Taib, S. M., Md Din, M. F., Dahalan, F. A. and Kamyab, H. (2016) "Comprehensive review on phytotechnology: Heavy metals removal by diverse aquatic plants species from wastewater", *Journal of Hazardous Materials*. Elsevier B.V., pp. 587–599. doi:10.1016/j.jhazmat.2016.07.053.

Schück, M. and Greger, M. (2020) "Screening the Capacity of 34 Wetland Plant Species to Remove Heavy Metals from Water", *International Journal of Environmental Research and Public Health Article*. doi:10.3390/ijerph17134623.

Sharma, S., Singh, B. and Manchanda, V. K. (2015) "Phytoremediation: role of terrestrial plants and aquatic macrophytes in the remediation of radionuclides and heavy metal contaminated soil and water", *Environmental Science and Pollution Research*. Springer Verlag, 22(2), pp. 946–962. doi:10.1007/s11356-014-3635-8.

Sneller, F. E. C., Noordover, E. C. M., Ten Bookum, W. M., Schat, H., Bedaux, J. J. M. and Verkleij, J. A. C. (1999) "Quantitative relationship between phytochelatin accumulation and growth inhibition during prolonged exposure to cadmium in *Silene vulgaris*", *Ecotoxicology*. Kluwer Academic Publishers, 8(3), pp. 167–175. doi:10.1023/A:1026440213649.

Stoltz, E. and Greger, M. (2002) "Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings", *Environmental and Experimental Botany*, 47(3), pp. 271–280. doi:10.1016/S0098-8472(02)00002-3.

Stottmeister, U., Wießner, A., Kusch, P., Kappelmeyer, U., Kästner, M., Bederski, O., Müller, R. A. and Moormann, H. (2003) "Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment", in *Biotechnology Advances*. Elsevier Inc., pp. 93–117. doi:10.1016/j.biotechadv.2003.08.010.

Upadhyay, A. K., Singh, D. P., Singh, N. K., Pandey, V. C. and Rai, U. N. (2018) "Sustainable Phytoremediation Strategies for River Water Rejuvenation", in *Phytomanagement of Polluted Sites: Market Opportunities in Sustainable Phytoremediation*. Elsevier, pp. 301–311. doi:10.1016/B978-0-12-813912-7.00011-9.

Ventura, D., Ferrante, M., Copat, C., Grasso, A., Milani, M., Sacco, A., Licciardello, F. and Cirelli, G. L. (2021) "Metal removal processes in a pilot hybrid constructed wetland for the treatment of semi-synthetic stormwater", *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V., 754, p. 142221. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.142221.



Weis, J. S. and Weis, P. (2004) "Metal uptake, transport and release by wetland plants: Implications for phytoremediation and restoration", *Environment International*. Elsevier Ltd, pp. 685–700. doi:10.1016/j.envint.2003.11.002.

Wu, J., Yang, L., Zhong, F. and Cheng, S. (2014) "A field study on phytoremediation of dredged sediment contaminated by heavy metals and nutrients: the impacts of sediment aeration", *Environmental Science and Pollution Research*. Springer Verlag, 21(23), pp. 13452–13460. doi:10.1007/s11356-014-3275-z.

Yadav, B. K., Siebel, M. A. and van Bruggen, J. J. A. (2011) "Rhizofiltration of a Heavy Metal (Lead) Containing Wastewater Using the Wetland Plant *Carex pendula*", *CLEAN - Soil, Air, Water*. John Wiley & Sons, Ltd, 39(5), pp. 467–474. doi:10.1002/clen.201000385.

Zaranyika, M. F. and Ndapwadza, T. (1995) "Uptake of ni, zn, fe, co, cr, pb, cu and cd by water hyacinth (*eichhornia crassipes*) in mukuvisi and manyame rivers, zimbabwe", *Journal of Environmental Science and Health. Part A: Environmental Science and Engineering and Toxicology*. Taylor & Francis Group, 30(1), pp. 157–169. doi:10.1080/10934529509376193.