

Efecto del cadmio sobre la germinación y crecimiento de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* (Plantae-Combretaceae)

Effect of cadmium on the germination and growth of *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* (Plantae-Combretaceae)

Ámbar Benavides¹, Raquel Del Pezo¹, Beatriz Pernia², Mariuxi Mero³, Xavier Cornejo², Iván Magallanes¹, Braulio Romero¹, Josué Zambrano¹

¹Estudiante de la Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador. Email: benavides_sisa@hotmail.com

²Herbario GUAY, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.

³Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Av. Raúl Gómez Lince s/n y Av. Juan Tanca Marengo, Guayaquil, Ecuador.

Fecha de recepción: 19 de junio de 2018 Fecha de aceptación: 24 de julio de 2018

RESUMEN. *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* (C. Presl) Stace es un mangle de distribución restringida en la costa del Pacífico, sus poblaciones se encuentran desde el Golfo de Guayaquil hasta Tumbes. Esta variedad se considera vulnerable debido a la pérdida de su hábitat, no existen estudios sobre su tolerancia a metales pesados. En Guayaquil se ha evidenciado presencia de cadmio en zonas de manglar, por lo que el objetivo de esta investigación es demostrar el efecto de este metal en la germinación y crecimiento de esta variedad. Para ello se expusieron semillas a diferentes concentraciones de cadmio (0-0,5-1-2-4-8 mg/L Cd) durante 15 días, determinando la tasa de germinación (TG), porcentaje de germinación final (PG), porcentaje de mortalidad, tiempo y velocidad media de germinación (TMG - VMG), longitud de radícula e hipocótilo y el Índice Integral de Fitotoxicidad (IIF). El cadmio no afectó el PG, TMG, VMG, ni el porcentaje de mortalidad. La longitud de hipocótilo presentó un incremento en comparación al control en 1 mg/L Cd; mientras la longitud de la radícula disminuyó en 42, 34, 29 y 49 % en las concentraciones de 1-2-4-8 mg/L Cd, respectivamente. En el IIF se evidenció mayor toxicidad a concentraciones de 0,5 y 8 mg/L Cd con 27,05% y 31,98%. Sobre la base a los resultados obtenidos se propone replicar el presente estudio en diferentes especies de mangle y establecer un límite máximo permisible de cadmio en sedimento de zonas estuarinas del Ecuador.

Palabras claves: *Laguncularia racemosa*, Índice Integral de Fitotoxicidad, radícula, mangle.

ABSTRACT. *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* (C. Presl) Stace, the white mangrove, is an endemic specie restricted to the Pacific Coast, it grows throughout the coastal areas from Guayaquil Coast to Tumbes. These specimens are considered vulnerable to disturbance, as their area of distribution is restricted to one region; nevertheless, no studies had been developed, to evaluate the tolerance of these plants to heavy metals like cadmium. Presence of cadmium on the mangrove zone in Guayaquil had been noticed, due to this, the prime purpose of this investigation is to prove the effects of this metal over this specimen's growth rate and germination. To execute this study, seeds had been exposed to different concentration of

cadmium (0-0,5-1-2-4-8 mg/L Cd) for 15 days, to determine the Germination Rate (GR), Germination Percentage (GP), death rate, mean germination time, germination speed, hypocotyl and radicle growth as well as the Integral Index of Phytotoxicity (IIP). After performing the test, the cadmium did not affect the GP, mean germination time, germination speed, nor the death rate. It was observed an increment of the hypocotyls longitude compared to 1 mg/L Cd control; meanwhile, the radicle longitude shown a diminution of 42, 34, 29 y 49 % on the test with concentration of 1-2-4-8 mg/L Cd, respectively. The IIP showed an increase on the test with concentration of 0, 5 and 8 mg/L Cd with results of 27,05% and 31,98%. Based on the results obtained in this analysis, it is of paramount importance to perform a more extensive study over different mangrove species, to set down a maximum cadmium rate allowed in estuary's sediments of Ecuador.

Keywords: *Laguncularia racemosa*, Integral Index of Phytotoxicity, radicle, mangrove.

INTRODUCCIÓN

Los manglares son formaciones vegetales que cumplen un rol importante en el ecosistema, pues albergan larvas y formas jóvenes de un gran número de especies de peces, crustáceos y moluscos de interés tanto social como económico (Goncalves & Geraldo, 2007). Además, los manglares desempeñan un papel de filtro en el proceso de depuración de las aguas, reteniendo en su rizósfera compuestos orgánicos y metálicos, convirtiéndose en un reservorio de metales pesados (Vannucci, 2001). Sin embargo, en la actualidad estos sufren alteraciones generadas por la contaminación como consecuencia de las descargas de aguas servidas e industriales (Foroughbakhch, Céspedes, Alvarado-Vázquez, Núñez-González & Badii, 2004).

Dentro de los contaminantes, el cadmio (Cd) es uno de los metales pesados más dañinos para los ecosistemas acuáticos por su toxicidad, solubilidad y capacidad de concentrarse e incorporarse en la cadena trófica, principalmente en las plantas acuáticas y los organismos (Borker, Mane, Saratale, & Pathade, 2013; Pernía, Sousa, Reyes, & Castrillo, 2008). En Ecuador se ha descrito que existe contaminación por Cd en los sedimentos de varias áreas de manglar tales como el estero Salado 0,50-12,00 mg/kg Cd, Manglares Churute 5,99-15,97 mg/kg Cd (Proaño, 2016), Estero el Macho 0,95 mg/kg Cd (Ramírez, 2017) y Puerto el Morro 2,99-4,99 mg/kg Cd (Mero, Arcos, Egas, Siavichay, & Lindao, 2012). Este Cd presente en el sedimento es móvil y podría transferirse a las plantas, donde altas concentraciones pueden generar inhibición de crecimiento y desarrollo de las raíces, clorosis y estrés oxidativo (Pernía et al., 2008), por lo que resulta indispensable estudiar el efecto de este metal pesado sobre los mangles y especialmente en aquellas especies endémicas de estas zonas.

En Ecuador se han registrado 6 especies de mangles, los mangles mayores: *Rhizophora mangle*, *R. racemosa* (éstos producen al híbrido *R. x harrisonii*), *Avicennia germinans*, *Laguncularia racemosa*, y, los mangles menores: *Pelliceria rhizophorae* y *Tabebuia palustris* (Cornejo, 2014).

De la especie *Laguncularia racemosa* existen dos variedades *racemosa* y *glabriflora* (Cornejo, 2015). *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* (C. Presl) Stace se ha categorizado como vulnerable por la pérdida de su hábitat en la Costa del Pacífico debido a la construcción descontrolada de camaroneras y la expansión de algunas ciudades como Guayaquil y Machala (Cornejo, 2014), además de ser utilizada como producto maderero para la fabricación de casas, cercas y canoas (Madsen, Mix, & Balslev, 2001).

Sin embargo, no se conoce el efecto del Cd sobre la germinación y el crecimiento de esta variedad vulnerable. La germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas son las etapas más sensibles a los contaminantes y a los cambios en el medio ambiente. Es por ello, que el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de diversas concentraciones de cadmio sobre la germinación y el crecimiento del mangle blanco, *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Laguncularia racemosa var. *glabriflora* (C. Presl) Stace conocida como Mangle blanco, pertenece a la clase Magnoliopsida, orden Myrtales, familia Combretaceae. Se encuentra distribuida en la costa del Pacífico desde el Golfo de Guayaquil hasta Tumbes y en la costa del Atlántico en el suroccidente de Florida, Méjico y en las islas del Caribe (Cornejo, 2014, 2015). En Ecuador se la ha registrado en la provincia de Guayas y El Oro. En Guayaquil existen evidencias de su presencia en el Estero Salado, Estero Mongón y en la Isla Puná. En el presente estudio se trabajó con semillas obtenidas en el Estero Salado, sector Estero Palanqueado, Guayaquil, Ecuador (coordenadas 2°13'41" y 79°55'16").

Una vez obtenidas las semillas se trasladaron al Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales de la Universidad de Guayaquil donde fueron seleccionadas 250 semillas con pesos y longitudes similares (**Tabla 1**). Las semillas de *L. racemosa* var. *glabriflora* presentaron un peso promedio de $0,25\pm 0,02$ - $0,30\pm 0,04$ g, largo de $19,15\pm 0,96$ - $19,65\pm 0,65$ mm y ancho $5,90\pm 0,83$ – $6,91\pm 1,05$ mm y en la Tabla 1 se observa que no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($P\geq 0,05$).

Tabla 1. Condiciones iniciales de las semillas de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora*.

Cd (mg/L)	Peso (g)	Largo (mm)	Ancho (mm)
0	$0,25\pm 0,02$	$19,59\pm 1,11$	$5,90\pm 0,83$
0,5	$0,27\pm 0,03$	$19,15\pm 0,96$	$6,57\pm 0,57$
1	$0,27\pm 0,03$	$19,43\pm 1,28$	$6,59\pm 0,73$
2	$0,28\pm 0,04$	$19,28\pm 2,05$	$6,59\pm 0,55$
4	$0,28\pm 0,04$	$19,52\pm 1,75$	$6,91\pm 1,05$
8	$0,30\pm 0,04$	$19,65\pm 0,65$	$6,43\pm 0,30$
F	1,07	0,14	1,70
P	0,391	0,981	0,156

Posteriormente, las semillas se esterilizaron con hipoclorito de sodio al 2,5% por 30 min y se lavaron seis veces con agua destilada, según el protocolo de Vadillo, Suni, & Cano (2004).

Bioensayo

Para determinar el efecto del Cd sobre *L. racemosa* var. *glabriflora* se utilizó el protocolo propuesto por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) 600/3-88/029 (Greene 1988). Una vez esterilizadas, las semillas fueron embebidas por 24 h en distintas soluciones de cadmio. Se trabajó con concentraciones realistas de Cd reportadas por Mite et al. (2010) y Muñoz (2017) en suelos ecuatorianos: 0,50, 1, 2, 4 y 8 mg kg⁻¹ Cd y se usó agua destilada como testigo positivo. Una vez embebidas las semillas por cuadruplicado se colocaron 10 semillas en cápsulas de Petri de vidrio con dos capas de papel filtro N°2 al cual se le colocó 5 ml de la concentración respectiva de CdNO₃ (Accustandard). Las placas con las semillas se colocaron en una cámara de germinación a 25°C y un fotoperíodo de 12 horas por 15 días.

El porcentaje de germinación se determinó a diario según la fórmula de Cokkizgin & Cokkizgin (2010) (**Tabla 2**), así mismo se calculó el tiempo medio de germinación (TMG) y la velocidad media de germinación (VMG) (Moreno, Miranda, & Martínez, 2013).

Tabla 2. Fórmulas utilizadas en el cálculo de las variables de estudio

Variable	Fórmula	Autor
Porcentaje de germinación (PG)	$PG = \frac{\text{número de semillas germinadas}}{\text{número de semillas totales}} \times 100$	Cokkizgin & Cokkizgin, 2010
Tiempo medio de germinación (TMG)	$TMG = \frac{(x_1 d_1) + (x_2 d_2) + \dots + (x_n d_n)}{X_n}$	Moreno et al., 2013
Velocidad media de germinación (VMG)	$VMG = \frac{P_1/T_1 + P_2/T_2 + \dots + P_n}{T_n}$	Moreno et al., 2013

P = número de semillas germinadas; T = tiempo germinación; n = día último control; x1, x2, x15 = semillas germinadas día 1, 2,...n; d1, d2,... dn = días incubación, Xi = semillas germinadas por día de revisión y Xn = número total de semillas germinadas el último día de control.

Para calcular el efecto del cadmio sobre el crecimiento se midió a interdiario la longitud de las radículas e hipocótilos con un vernier digital calibrado.

Índice integral de fitotoxicidad (IIF)

Se determinó la toxicidad del cadmio utilizando el índice integral de fitotoxicidad según la fórmula propuesta por Pernía et al. (2018):

$$IIF = 100 - \left(\frac{SGM}{SGC} \left(\frac{\frac{LRM}{LRC} + \frac{LHM}{LHC}}{2} \right) \right) 100$$

Donde:

SGM = número de semillas germinadas de la muestra, es el promedio del número de semillas germinadas en las cuatro réplicas para cada tratamiento (n = 4).

SGC = número de semillas germinadas del control, es el promedio del número de semillas germinadas en las cuatro réplicas del testigo (n = 4).

LRM = Longitud de la radícula de la muestra, es el promedio de la medición en centímetros de las radículas de 10 plántulas por réplica de cada tratamiento (n = 40).

LRC = Longitud de la radícula del control, es el promedio de la medición en centímetros de las radículas de 10 plántulas por réplica del testigo (n = 40).

LHM = Longitud del hipocótilo de la muestra, es el promedio de la medición en centímetros de los hipocótilos de 10 plántulas por réplica de cada tratamiento (n = 40).

LHC = Longitud del hipocótilo del control, es el promedio de la medición en centímetros de los hipocótilos de 10 plántulas por réplica del testigo (n = 40).

Este índice muestra los resultados de -100 a 100 pudiéndose interpretar en términos de porcentaje. También permite observar no solo los efectos de inhibición de crecimiento (valores positivos), sino también los efectos de estimulación de crecimiento (valores negativos).

Este índice muestra los resultados de -100 a 100 pudiéndose interpretar como porcentaje, mostrando la inhibición de crecimiento con valores positivos y estímulo de crecimiento con valores negativos.

Análisis estadístico

Los resultados se muestran como medias \pm desviación estándar. Se analizó la normalidad de los datos utilizando la prueba de Anderson-Darling y la igualdad de varianza con el test de Levene. Para determinar si existían diferencias significativas en el porcentaje de germinación, TMG, VG, longitud de las radículas e hipocótilos de las plántulas de *L. racemosa* var. *glabriflora* expuestas a las diferentes concentraciones de Cd se aplicó una prueba de ANOVA de una vía y test a Posteriori de Tukey ($P \geq 0.05$). Para los datos no paramétricos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Para todos los análisis se utilizó el programa MINITAB versión 17.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efectos del Cd sobre la germinación de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora*

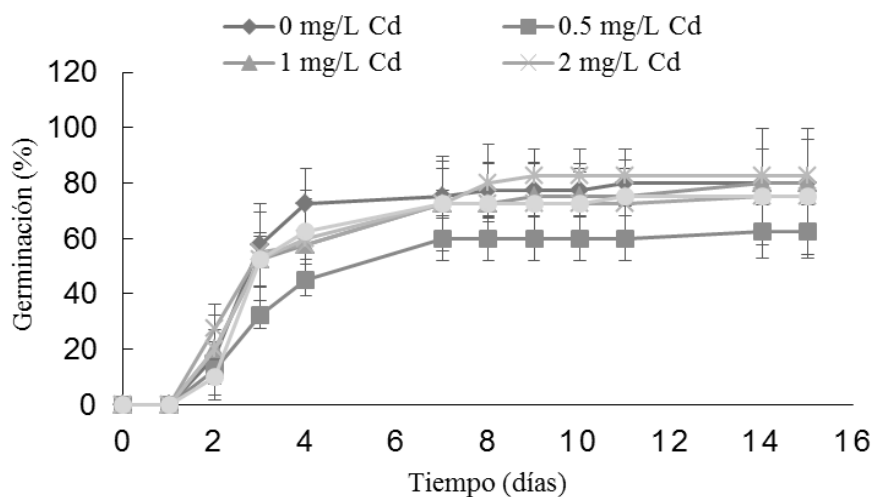
En la **Fig. 1** se observa la tasa de germinación y el porcentaje de germinación final de *L. racemosa* var. *glabriflora* durante los 15 días de observación (**Fig. 1a**). En la **Fig. 1b** se muestra que el mayor porcentaje de germinación en *L. racemosa* var. *glabriflora* se registró a 4 mg/L de Cd ($82,50 \pm 17,07$ %) seguido por el control ($80,00 \% \pm 8,16$) y a 1 mg/L Cd ($80,00 \% \pm 14,14$), sin embargo, las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas ($F = 0,93$, $P = 0,482$). El menor porcentaje de germinación fue de $62,5 \% \pm 9,57$ a 0,5 mg/L Cd significativamente menor al control ($F = 7,74$; $P = 0,032$), sin embargo, este resultado podría deberse a un problema de viabilidad de las semillas, como se observa en la Figura 3. Contrario a nuestros resultados, Liu, Yang, Xie, Xia & Fan (2012) observaron inhibición de la germinación en plantas de al exponerla a 0,1-6,0 mg/L de Cd, siendo más resistente al

metal pesado *L. racemosa*, var. *glabriflora* esto podría deberse a la tolerancia de esta especie por proceder de una zona contaminada con Cd (Estero Salado) (Fernández-Cadena, Andrade, Silva-Coello, & De la Iglesia, 2014).

Al igual que el presente trabajo, a altas concentraciones de Cd otros autores no observaron inhibición de la germinación en las especies *Cucumis sativus*, *Sorghum bicolor*, *Triticum aestivum* (An, 2004), *Helianthus annuus*, *Lens culinaris*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays* (An, 2004; Pernía, Raimúndez, & Castrillo, 2007), por lo que la germinación no pareciera ser un buen indicador de la toxicidad del cadmio. De igual manera, la germinación se ha descrito como un parámetro poco sensible a otros contaminantes como hidrocarburos y metil terbutil éter (Dorn et al., 1997; Pernía et al., 2018; An, Kampbell, & McGill, 2002).

En la **Tabla 3**, se aprecia que el Cd tampoco afectó el tiempo medio de germinación (TMG), ya que no se observaron diferencias significativas entre el control y los diferentes tratamientos ($F = 1,81$; $P = 0,162$). El tiempo medio de germinación para el control fue de $0,13 \pm 0,04$ días y solo se apreció una reducción no significativa a $0,12 \pm 0,08$ días al exponer las semillas a 8 mg/L de Cd. De igual forma, la velocidad media de germinación (VMG) no se vio afectada por el tratamiento con Cd. La mayor velocidad de germinación que fue de 0,28 semillas germinadas/días se obtuvo a 2 mg/L Cd, y el menor valor que fue de 0,18 semillas germinadas/días a 0,5 mg/L Cd, sin embargo, las diferencias no son estadísticamente significativas ($F = 1,77$; $P = 0,169$).

A.



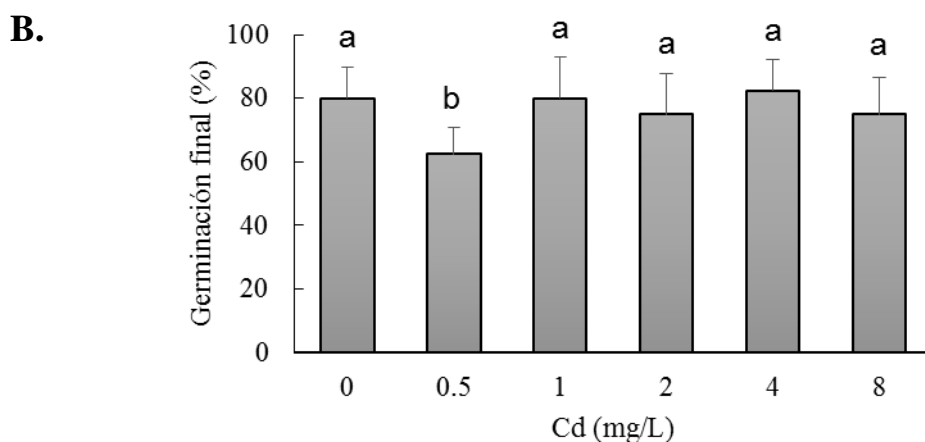


Figura 1. Porcentaje de germinación de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* expuesta a diferentes concentraciones de Cd (0, 0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd). **A.** Tasa de germinación en el tiempo. **B.** Porcentaje de germinación final. Los resultados se muestran como medias \pm desviación estándar (n=40). Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre las medias ($P \geq 0,05$).

Tabla 3. Tiempo medio de germinación (TMG) y velocidad media de germinación (VMG) de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* expuesta a diferentes concentraciones de Cd (0, 0,5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd). Los resultados se muestran como medias \pm desviación estándar.

Cd (mg/L)	TMG (d)	VMG
0	0,13 \pm 0,04	0,25 \pm 0,05
0,5	0,13 \pm 0,03	0,18 \pm 0,03
1	0,17 \pm 0,03	0,26 \pm 0,05
2	0,13 \pm 0,10	0,28 \pm 0,01
4	0,17 \pm 0,07	0,25 \pm 0,10
8	0,12 \pm 0,08	0,22 \pm 0,08
F- Fisher	1,81	1,77
P	0,162	0,169

Con respecto a la mortalidad de las semillas (**Fig. 2**) no se observaron diferencias significativas entre el porcentaje de mortalidad de las testigos y las tratadas con Cd ($F = 0,93$; $p = 0,482$). El mayor porcentaje de mortalidad se obtuvo en 0,5 mg/L de Cd (37,5%), mientras que el menor valor se presentó en 4 mg/L Cd con 17,5%.

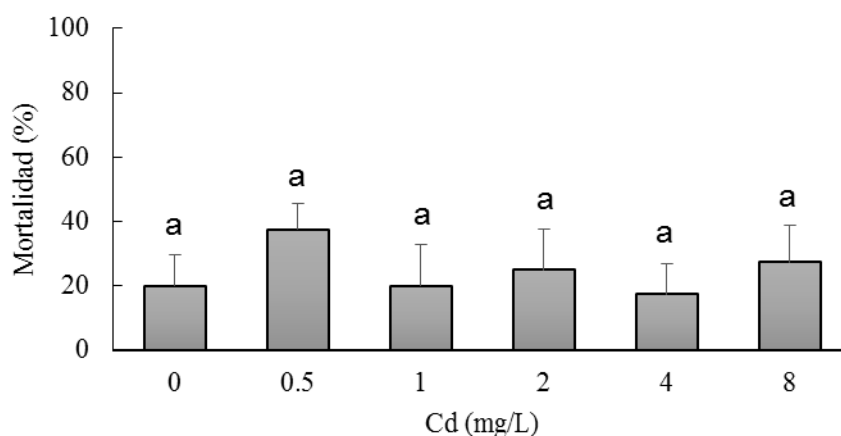


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de las semillas de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* expuesta a diferentes concentraciones de Cd (0, 0.5, 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd). Los resultados se muestran como medias \pm desviación estándar. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre las medias ($P \geq 0,05$).

Efectos del Cd sobre la longitud del hipocótilo y la radícula

Al igual que la germinación, la longitud del hipocótilo no fue un buen indicador de la toxicidad del Cd para *L. racemosa* var. *glabriflora*. En la Figura 3 se muestra el promedio de la longitud del hipocótilo de las plántulas de mangle expuestas a las diferentes concentraciones de Cd, donde se evidencia que no hubo diferencias significativas con respecto al testigo en la mayoría de los tratamientos. Solo se observó un estímulo de crecimiento a 1 mg/L Cd, presentando una longitud de $16,18 \pm 5,07$ mm mayor al testigo (14,66 mm). Contrario a estos resultados, Munzuroglu & Geckil, (2002) observaron inhibición del crecimiento del hipocótilo en plantas de trigo y pepino expuestas a 2,5 mM Cd.

Por el contrario, la longitud de la radícula fue la variable más afectada en la especie en estudio, donde se observaron diferencias significativas para las concentraciones de 1, 2, 4 y 8 mg/L Cd. ($H=15,57$; $P=0,008$). La longitud de la radícula mostró una clara afectación, reduciendo la longitud en un 58-66-71-51 % a las concentraciones 1-2-4-6-8 mg/L Cd en relación con el control. Además, se observó una coloración marrón en las raíces expuestas a 4 y 8 mg/L Cd, fenómeno observado por otros autores (Vassilev & Yordanov, 1997). Según

Vassilev & Yordanov (1997) los síntomas de fitotoxicidad se expresan más claramente en las raíces ya que estas acumulan grandes concentraciones del metal pesado.

Otras especies son más sensibles al Cd tal como *S. salsa* donde registraron una inhibición en el crecimiento de raíz en concentraciones desde 0,1 mg/L Cd. De igual forma, He, Ren, Zhu, & Jiang, (2008) evidenciaron un efecto marcado sobre el crecimiento de la radícula de plántulas de *O. sativa* expuesta a 5 - 25 $\mu\text{mol} / \text{L}$ de Cd.

Como observación experimental, al culminar el experimento, las plantas se colocaron en solución nutritiva y sólo los testigos y las expuestas a 0,5 mg/L Cd sobrevivieron, lo que demuestra que la afectación del Cd a las radículas fue letal para las plántulas.

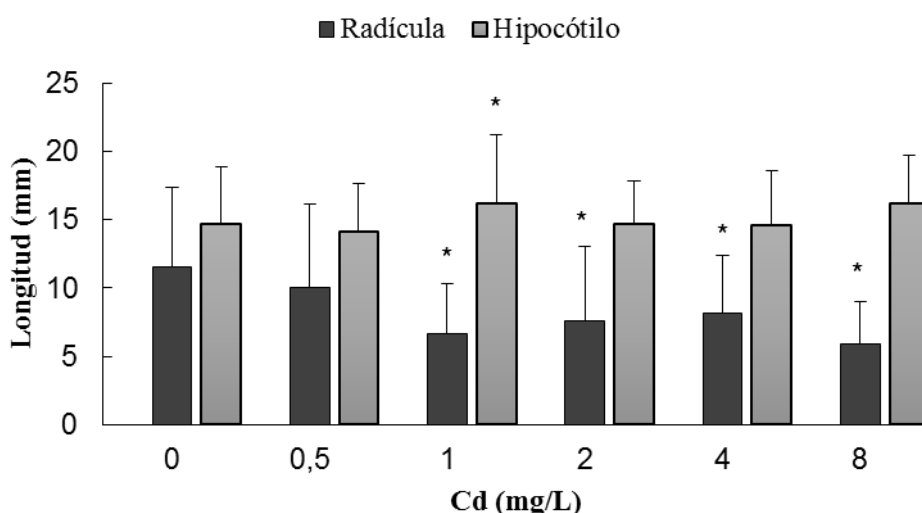


Figura 3. Efectos del Cd sobre el crecimiento de los hipocótilos y radículas de plántulas de *Laguncularia racemosa* var. *glabriflora* expuestas a diferentes concentraciones del metal pesado. **A.** Longitud de Hipocótilo en distintas concentraciones de Cadmio (mg/L). **B.** Longitud de las radículas a distintas concentraciones de Cadmio (mg/L). Los resultados se muestran como media±desviación estándar. Asterisco (*) muestra diferencia significativa según Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

Índice integral de fitotoxicidad

El IIF integra los efectos del Cd sobre la germinación, el crecimiento de los hipocótilos y las radículas mostrándonos una visión integral de la toxicidad del Cd sobre *L. racemosa* var. *glabriflora*. En la Figura 4 se muestra el grado de fitotoxicidad, donde se aprecia que a

todas las concentraciones del metal pesado se presentó toxicidad y los valores más altos 27,05 y 31,98 se presentaron a 0,5 y 8 mg/L Cd, respectivamente.

Finalmente podemos concluir que el Cd es tóxico para la variedad en estudio a niveles permitidos por la norma ecuatoriana para calidad de suelo (0,5 mg/Kg Cd). Considerando que esta variedad se ha clasificado como vulnerable por la pérdida de su hábitat, podemos añadir la contaminación por cadmio como otro factor de peligro para la sobrevivencia de *L. racemosa* var. *glabriflora*, ya que se han registrado concentraciones de 0,5-15 mg/kg en sedimentos de zonas de manglar en la provincia del Guayas, Ecuador.

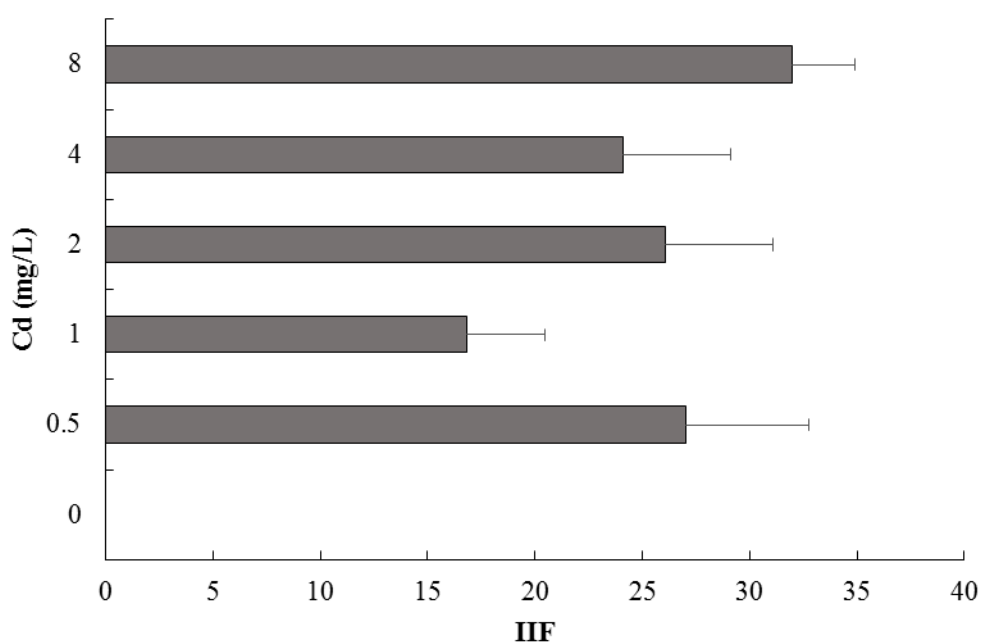


Figura 4. Índice Integral de fitotoxicidad de las plántulas de *L. racemosa* var. *glabriflora* expuestas a diferentes concentraciones de Cd. Los resultados se muestran como media±desviación estándar.

CONCLUSIONES

El Cd no afectó la germinación ni el crecimiento de los hypocótilos de plántulas de *L. racemosa* var. *glabriflora*, sin embargo, inhibió el crecimiento de las radículas lo que afectó la sobrevivencia de las plantas. Así mismo, se observó un índice integral de fitotoxicidad mayor al 20% a todas las concentraciones de Cd estudiadas.

El Cd afectó significativamente el crecimiento del mangle blanco incluso a bajas concentraciones de Cd (0,5 mg/L) coincidiendo con el límite máximo permitido en la legislación ecuatoriana para suelos (Texto Unificado de la legislación Ambiental, Acuerdo Ministerial 097A), por lo que se recomienda a las autoridades realizar más estudios en otras especies de mangles para adecuar las normas a valores de cadmio que no afecten el crecimiento de la flora.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- An, Y.-J. (2004). Soil ecotoxicity assessment using cadmium sensitive plants. *Environmental Pollution*, 127(1), 21–26. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00263-X](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00263-X)
- An, Y.-J., Kampbell, D. H., & McGill, M. E. (2002). Toxicity of methyl tert-butyl ether to plants (*Avena sativa*, *Zea mays*, *Triticum aestivum*, and *Lactuca sativa*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(8), 1679–82. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12152769>
- Baud-Grasset, F., Baud-Grasset, S., & Safferman, S. I. (1993). Evaluation of the bioremediation of a contaminated soil with phytotoxicity tests. *Chemosphere*, 26(7), 1365–1374. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(93\)90187-A](https://doi.org/10.1016/0045-6535(93)90187-A)
- Borker, A. R., Mane, A. V., Saratale, G. D., & Pathade, G. R. (2013). Phytoremediation potential of *Eichhornia crassipes* for the treatment of cadmium in relation with biochemical and water parameters. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25(6), 443–456. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v25i6.13970>
- Cokkizgin, A., & Cokkizgin, H. (2010). Effects of lead (PbCl₂) stress on germination of lentil (*Lens culinaris* Medic.) lines. *African Journal of Biotechnology*, 9(50), 8608–8612. <https://doi.org/10.5897/AJB10.890>
- Cornejo, X. (2014). *Plants of the South American Pacific Mangrove Swamps (Colombia, Ecuador, Peru)* (Priemera E). Guayaquil: Facultad de Ciencias Naturales.
- Cornejo, X. (2015). Las especies emblemáticas de flora y fauna de la ciudad de Guayaquil y de la provincia del Guayas, Ecuador The emblematic species of flora and fauna of the city of Guayaquil and of the province of Guayas, Ecuador. *Revista Científica de Ciencias Naturales Y Ambientales*, 9(2), 56–71.
- Dorn, P. B., Huesemann, M. H., Moore, K. O., Rhodes, I. A., Jackson, L. M. R., Vipond, T. I. M. E., ... Wisniewski, H. L. (1997). Crude Oil Hydrocarbon Bioremediation and Soil Ecotoxicity Assessment. *Environmental Science & Technology*, 31(6), 1769–1776.
- Fernández-Cadena, J. C., Andrade, S., Silva-Coello, C. L., & De la Iglesia, R. (2014). Heavy metal concentration in mangrove surface sediments from the north-west coast of South America. *Marine Pollution Bulletin*, 82(1–2), 221–6. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.03.016>
- Foroughbakhch, R., Céspedes, A., Alvarado-Vázquez, M., Núñez-González, A., & Badii, M. H. (2004). Aspectos ecológicos de los manglares y su potencial como fitorremediadores en el Golfo de México. *Ciencia UANL*, 7(2), 203–208. Retrieved from http://eprints.uanl.mx/1414/1/art_manglares.pdf

- Goncalves, M., & Geraldo, L. (2007). *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle* como bioindicadoras de poluição por metais pesados em ambientes de mangues. *Eng. Sanit. Ambient.*, 12, 440–445.
- He, J., Ren, Y., Zhu, C., & Jiang, D. (2008). Effects of Cadmium Stress on Seed Germination, Seedling Growth and Seed Amylase Activities in Rice (*Oryza sativa*). *Rice Science*, 15(4), 319–325. [https://doi.org/10.1016/S1672-6308\(09\)60010-X](https://doi.org/10.1016/S1672-6308(09)60010-X)
- Liu, S., Yang, C., Xie, W., Xia, C., & Fan, P. (2012). The effects of cadmium on germination and seedling growth of *Suaeda salsa*. *Procedia*, 16, 293–298. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2012.10.041>
- Madsen, J. E., Mix, R., & Balslev, H. (2001). *Flora of Puná Island: plant resources on a neotropical island*. Aarhus University Press. Retrieved from <https://www.nhbs.com/flora-of-puna-island-book>
- Mero, M., Arcos, V., Egas, F., Siavichay, R., & Lindao, G. (2012). Determinación de metales pesados (Cd y Pb) en moluscos bivalvos de interés comercial *Anadara tuberculosa* y *A. grandis* de Puerto El Morro, Ecuador. *Revista de Divulgación de La Dirección de Investigaciones Y Proyectos Académicos de La Universidad de Guayaquil*, 4(4), 19–32.
- Mite, F., Carrillo, M., & Durango, W. (2010). Avances del monitoreo de Prescencia de cadmio en almendras de cacao, suelo y agua en Ecuador. In *XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo XII Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo* (pp. 17–19).
- Moreno, E., Miranda, D., & Martínez, F. (2013). Zeatin promotes sugar apple seed germination (*Annona squamosa* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(1), 9–19.
- Munzuroglu, O., & Geckil, H. (2002). Effects of metals on seed germination, root elongation, and coleoptile and hypocotyl growth in *Triticum aestivum* and *Cucumis sativus*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(2), 203–213. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-1116-4>
- Pernía, B., Raimúndez, E., & Castrillo, M. (2007). Resultados preliminares del efecto de la contaminación por cadmio en la germinación de algunas especies de plantas de cultivo en Venezuela. In *XVII Congreso Venezolano de Botánica*. Maracaibo, Venezuela.
- Pernía, B., Rojas-Tortolero, D., Sena, L., De Sisto, A., Inojosa, Y., & Leopoldo, N. (2018). Fitotoxicidad de HAP, crudos extra pesados y sus fracciones en *Lactuca sativa*: una interpretación integral utilizando un índice de toxicidad modificado. *Rev. Inter. Cont. Amb.*, 34(1), In Press.
- Pernía, B., Sousa, A. D. E., Reyes, R., & Castrillo, M. (2008). Biomarcadores de contaminación por cadmio en plantas. *Interciencia*, 33, 112–119.
- Proaño, M. del C. (2016). *Análisis espacial de concentraciones de metales pesados en agua y sedimentos en la Reserva Ecológica Manglares de Churute*. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil. Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/14817>
- Ramírez, A. (2017). Determinación de cadmio y plomo en agua y sedimento del estero “el macho” de la ciudad de Machala. Consultado: 9 de noviembre de 2017. Disponible en [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/18532/1/TESIS RAMIREZ%2CA.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/18532/1/TESIS_RAMIREZ%2CA.pdf)
- Rasafi, T. El, Nouri, M., Bouda, S., & Haddioui, A. (2016). The effect of Cd, Zn and Fe on seed germination and early seedling growth of wheat and bean. *Ekológia (Bratislava)*, 35(3), 213–223. <https://doi.org/10.1515/eko-2016-0017>
- Vadillo, G., Suni, M., & Cano, A. (2004). Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (*Bromeliaceae*). *Rev. Peru. Biol.*, 11(1), 71–78.

- Vannucci, M. (2001). What is so special about mangroves? *Brazilian Journal of Biology*, 61(4), 599–603.
- Vassilev, a, & Yordanov, I. (1997). Reductive analysis of factors limiting growth of cadmium-treated plants: a review. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 23(3–4), 114–133.
- Visioli, G., Marmiroli, M., & Marmiroli, N. (2010). Two-dimensional liquid chromatography technique coupled with mass spectrometry analysis to compare the proteomic response to cadmium stress in plants. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2010, 567510. <https://doi.org/10.1155/2010/567510>