

## State of the Art:

# Indicators for the cadmium phytoextraction evaluation of plants associated to tropical humid forest

Sebastián Cestari<sup>ID</sup>, Natasha Tellería–Mata<sup>ID</sup>, Samuel Villanueva<sup>ID</sup>

Centro Nacional de Tecnología Química, Caracas, Venezuela.

Recibido: mayo, 2020,

Aceptado: agosto, 2020.

Autor para correspondencia: S. Villanueva e-mail: publicacionesgpidi.cntq@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4289122>

## Abstract

The purpose of the present state of the art is to identify the indicators frequently used to catalog a plant species as a phytoextractor, as well as to recognize the methodologies and instruments commonly used to estimate them; in addition, a list of plants already registered within the Bolivarian Republic of Venezuela that could have potential for the remediation of contaminated cadmium soils is provided. The indicators that are usually used to weight the phytoextraction potential of a plant are the transfer, bioaccumulation and bioconcentration factors, however, the practicality of the “number of crops needed” and the “tolerance index” are highlighted. Three experimental trials should be undertaken before affirming whether a plant can be used for phytoextraction, that is, tests with “contaminated nutrient solutions”, “artificially contaminated soil” and “naturally contaminated soil”. For the diagnosis of cadmium in soils and plant tissues, the equipments commonly used are atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma and atomic absorption. Finally, plants that could have potential for soil cadmium phytoextraction purposes were identified.

**Keywords:** phytoextraction; phytoremediation; translocation factor; bioaccumulation factor; bioconcentration factor.

## Estado del Arte:

# Indicadores para la evaluación fitoextractora de cadmio de plantas asociadas a bosque húmedo tropical

## Resumen

El propósito del estado del arte es identificar los indicadores frecuentemente empleados para evaluar el potencial fitoextractor de una especie vegetal, así como reconocer las metodologías e instrumentos comúnmente usados para estimarlos; además, es suministrada una lista de plantas registradas dentro de la República Bolivariana de Venezuela que podrían poseer potencial para la remediación de suelos contaminados de cadmio. Los indicadores que suelen usarse para ponderar el potencial fitoextractor de una planta son los factores de transferencia, de bioacumulación y de bioconcentración; se resalta la practicidad del “número de cosechas necesarias” y del “índice de tolerancia”. Tres ensayos experimentales deben emprenderse antes de afirmar que una planta puede usarse para fitoextracción, es decir, pruebas en “solución nutritiva contaminada”, en “suelo artificialmente contaminado” y en “suelo naturalmente contaminado”. Para el diagnóstico de cadmio en suelos y tejidos vegetales, los equipos corrientemente utilizados son la espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente y la absorción atómica. Finalmente, las plantas que podrían tener potencial para fines de fitoextracción de cadmio edáfico fueron identificadas.

**Palabras clave:** fitoextracción; fitorremediación; factor de transferencia; factor de bioacumulación; factor de bioconcentración.

## 1. Introducción

El desgaste antrópico de la naturaleza ha desencadenado una serie de eventos imprevistos que, hoy en día, comprometen el bienestar de la humanidad y de sus futuras generaciones. Entre los tópicos concernientes, resalta la liberación directa de metales pesados (MP) en las áreas donde el hombre y sus alimentos futuros tienden a desenvolverse [1].

A pesar de la inexistencia de una convención al respecto, la literatura sugiere definir un metal pesado como aquel elemento metálico con densidad y número atómico mayores a  $5 \text{ g/cm}^3$  y 20, respectivamente [1]. Las fuentes de metales pesados en los espacios del hombre pueden ser naturales o a causa de las actividades antrópicas, sin embargo, éstas últimas son consideradas las contribuyentes principales [2].

En relación al metabolismo en las especies biológicas, los MP pueden clasificarse en esenciales y no esenciales, lo cual está sujeto a la existencia o no de una función metabólica [3]. En general, los MP no esenciales incluyen el cadmio (Cd), el plomo (Pb) y el mercurio (Hg); los tres tienen un efecto tóxico sobre los organismos vivos, pues éstos últimos, habitualmente, carecen de mecanismos para eludir sus efectos negativos [3].

Entre los MP no esenciales destaca el Cd, pues ha sido objeto de estudio intenso durante los últimos años; esto ha conducido a la aprobación o rectificación de los umbrales máximos permitidos de este metal que deben contener los suelos con diferentes usos antrópicos, así como los rubros de consumo humano y/o animal [4, 5, 6, 7, 8]. En miras de enmendar los contenidos de Cd y de otros MP en suelos, varias alternativas han emergido, entre las cuales la fitoextracción ha recibido atención especial [1]. La fitoextracción consiste en el uso de plantas capaces de capturar MP de la rizósfera y trasladarlos al vástago [1]. Aunque la eficiencia de esta técnica sigue en evaluación, sus defectos parecen ser perfectamente superados por las ventajas que ofrece en cuando a los costos de aplicación y respecto a las dinámicas del suelo. Para evaluar la posibilidad del uso de la fitoextracción, el primer paso es identificar especies vegetales capaces para

ello, lo cual involucra la medición de una serie de indicadores [2].

En este sentido, el propósito del presente estado del arte es:

- (a) Evaluar la dinámica científica entorno a la fitoextracción de Cd durante el lapso 1999 – 2019 en cuanto al número de artículos científicos, países, instituciones e investigadores líderes.
- (b) Identificar los indicadores habitualmente usados para cuantificar el potencial fitoextractor de una especie vegetal.
- (c) Reconocer las metodologías e instrumentos comúnmente empleados para contabilizar tales indicadores.
- (c) Registrar plantas identificadas previamente como fitoextractoras de Cd que puedan tener potencialidad para desarrollarse en entornos de bosque húmedo tropical y que estén reportadas dentro de la jurisdicción de la República Bolivariana de Venezuela.

## 2. Metodología

La extracción de datos fue realizada en las plataformas de publicaciones científicas Dimensions<sup>®</sup>, Scientific Electronic Library Online (SciELO)<sup>®</sup> y en la Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (Redalyc)<sup>®</sup> por medio de la aplicación de ecuaciones de búsqueda en el campo título y resumen. El estudio se enfocó en el periodo 1999 – 2019 y se consideraron los documentos tipo artículo.

Las publicaciones fueron almacenadas, depuradas y analizadas, se seleccionaron solo trabajos de investigación destinados a medir el potencial fitoextractor de cadmio de especies vegetales. Aquellos cuyos objetivos fueran el ponderar el impacto de aditivos químicos y/o biológicos, o el sopesar la influencia de una intervención física sobre la capacidad fitoextractora de cadmio de una planta fueron descartados. La base de datos [9] fue construida con 383 documentos, considera los campos de año de publicación, título, nombre y apellido del investigador, DOI, cantidad

Tabla 1: Ecuaciones de búsqueda y cantidad de registros según plataforma de publicaciones científicas

Plataforma	Ecuación de búsqueda	Cantidad de Publicaciones Científicas
1	(hyperaccumulator OR phytoextraction) AND (cadmium OR Cd) AND (“bioconcentration factor” OR “bioaccumulation factor” OR BCF OR BAF) AND (“translocation factor” OR TF)	369
2	(fitoextracción OR phytoextraction OR hiperacumulador OR hyperaccumulator) AND (cadmio OR cadmium OR Cd)	4
3	(ab:(fitoextracción OR phytoextraction OR hiperacumulador OR hyperaccumulator) AND (cadmio OR cadmium OR Cd))	10

Plataformas: 1. Dimensions<sup>®</sup>; 2. SciELO<sup>®</sup>; 3. Redalyc<sup>®</sup>.

de citas, país y afiliación del autor principal, etc. Se elaboraron los indicadores bibliométricos de productividad según año, país, institución e investigadores. Los análisis fueron realizados con la herramienta R v4.0.2 [10]. Las palabras claves y las ecuaciones utilizadas son mostradas en la Tabla 1.

### 3. Discusión de resultados

#### 3.1. Cantidad de publicaciones por año. Periodo 1999-2019

La evolución de las publicaciones científicas relacionadas a la capacidad fitoextractora de especies vegetales sobre cadmio y otros metales pesados para el periodo de estudio muestra una tendencia ascendente polinomial de tercer orden (Figura 1).

Las tasas de crecimiento anual promedio para los lapsos 2004 – 2008, 2009 – 2013 y 2014 – 2019 fueron de 41,42 %, 9,95 % y 163,37 % respectivamente.

La Figura 2 refleja que, dentro del lapso 2016 – 2019, es decir, en los últimos cuatro años, han sido publicados 55,88 % del total de documentos. El comportamiento describe el interés continuo de los países y de sus centros de investigación en la identificación de especies fitoextractoras y en el desarrollo de metodologías y tecnologías para la remediación de suelos contaminados por metales pesados.

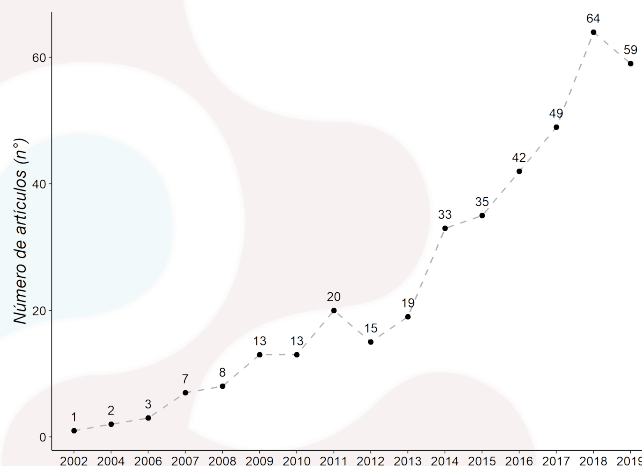


Figura 1: Cantidad de publicaciones sobre identificación y evaluación del potencial fitoextractor de cadmio de especies vegetales por año periodo 1999 – 2019

El periodo de mayor tasa de crecimiento coincide con la orientación de China en sus políticas públicas hacia el desarrollo de planes de lucha contra la contaminación y de recuperación de los suelos contaminados por actividades industriales [7].

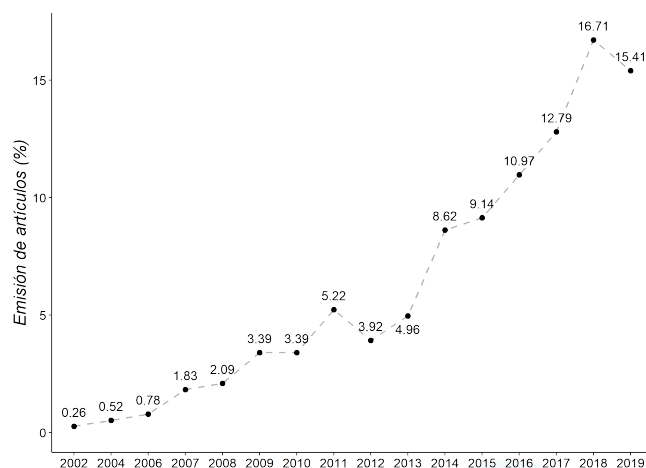


Figura 2: Porcentaje de publicaciones sobre identificación y evaluación del potencial fitoextractor de cadmio de especies vegetales en el periodo 1999 – 2019

### 3.2. Países líderes a nivel mundial según cantidad de publicaciones científicas. Periodo 1999-2019

Desde la perspectiva continental, el análisis de la base de datos indicó que Asia contribuye con el 58,75 %, seguida de Europa con 22,19 %, África 8,09 %, América 9,40 % y Oceanía 1,31 % de los documentos seleccionados sobre la identificación y evaluación del potencial de especies fitoextractoras de Cd durante el periodo 1999 – 2019. La Figura 3a muestra que a nivel mundial los países líderes según cantidad de publicaciones científicas son la República Popular China con 123 documentos (32,11 %), India con 46 (12,01 %), Italia con 19 (4,96 %), Egipto con 14 (3,66 %), Polonia, con 12 (3,13 %), Francia con 12 (3,13 %), Irán, Brasil y Tailandia con 10 (2,61 %) y Serbia con 9 (2,35 %).

Con respecto a América Latina y el Caribe (ALC), la Figura 3b muestra que Brasil es el líder regional, luego México con 9 registros (2,35 %), Chile y Colombia con 4 cada uno (1,04 %) y Venezuela con 2 publicaciones (0,52 %).

Del mismo análisis de la base de datos se determina que los 383 registros han sido citados en 7041 trabajos.

### 3.3. Instituciones e investigadores líderes a nivel mundial según cantidad de publicaciones científicas. Periodo 1999–2019

Del continente asiático siete (07) instituciones lideran con el 16,18 % de las publicaciones, del europeo dos (02) con el 2,35 % y de África una (01) con 1,83 %. La Figura 4b muestra las diez (10) instituciones más prolíficas a nivel mundial resaltando la Academia China de Ciencias con 20 documentos (5,22 %) seguida de la Universidad Agrícola de Sichuan con 17 (4,44 %), la Universidad Sun Yat-sen con 8 (2,09 %), Universidad de Helwan con 7 (1,83 %) y la Universidad de Belgrado con 5 publicaciones (1,31 %). En cuanto ALC veintisiete (27) instituciones aportaron el 8,62 % de los registros, resaltando la Universidad Federal Rural de la Amazonia, Universidad Federal de Río Grande del Sur, Universidad Católica del Norte, Pontificia Universidad Javeriana, Colegio de Postgraduados y el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas con dos (02) publicaciones cada una (0,52 %).

La leyenda aplicada en la Figura 4b fue la siguiente: Universidad Agrícola de Human (UAH), Universidad Agrícola de Nankín (UAN), Universidad Agrícola de Sichuan (UAS), Universidad de Belgrado (UB), Universidad de Helwan (UH), Universidad de Lanzhou (UL), Universidad Sun Yat-sen (USY) y Universidad de Údine (UU), Academia China de Ciencias (ACC) y el Instituto Indio de Tecnología de Dhanbad (IITD).

A nivel mundial los primeros cinco (05) investigadores líderes según la cantidad de publicaciones científicas son Lijin Lin de la Universidad Agrícola de Sichuan con 8 artículos (2,09 %), Tarek M. Galal de la Universidad de Helwan con 6 (1,57 %), Subodh Kumar Maiti del Instituto Indio de Tecnología de Dhanbad con 5 (1,31 %), Ming'an Lian de la Universidad Agrícola de Sichuan con 6 (1,57 %) y Qingsheng Cai de la Universidad Agrícola de Nankín con 4 documentos (1,04 %) (ver Figura 4a).

De ALC destacaron Carolina Demarco de la Universidad Federal de Río Grande del Sur, Elizabeth J. Lam de la Universidad Católica del Norte, María Sánchez de la Pontificia Universidad Javeriana, Leticia Buendía-González de la Universidad Autónoma del Estado de México y Elizabeth Olivares del

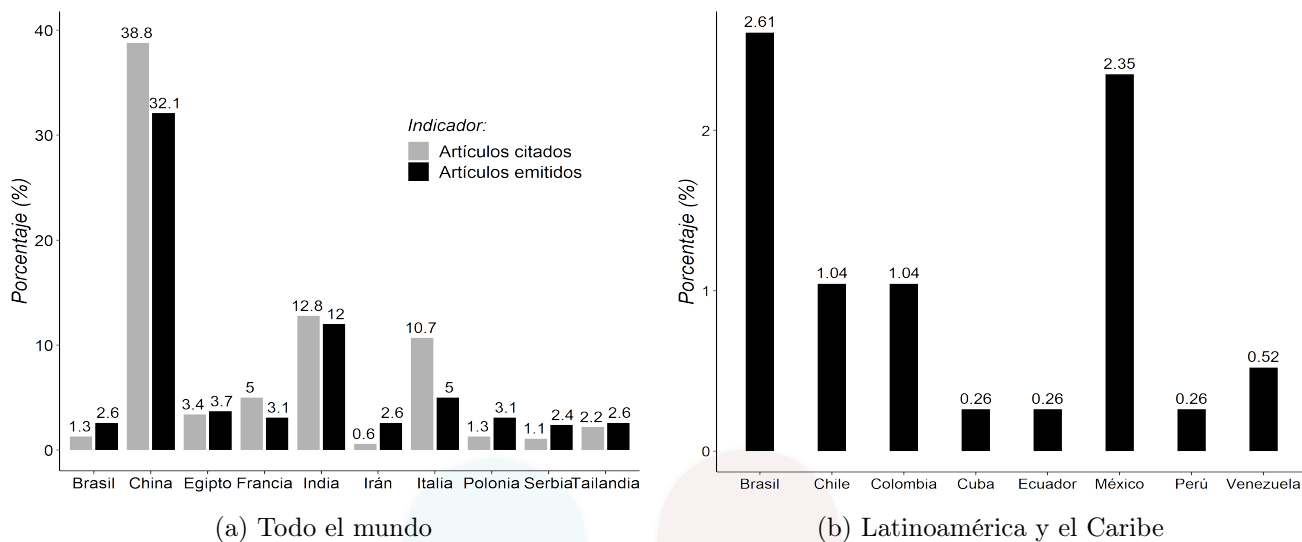


Figura 3: Naciones líderes en la identificación y valoración del potencial fitoextractor de cadmio de especies vegetales en el periodo 1999 – 2019. En “a” y “b” puede apreciarse el indicador “artículos emitidos”, el cual fue construido con base al total de artículos identificados (383). “Artículos citados” fue elaborado a partir de las citas asociadas (7041) a todos los documentos reconocidos (383).

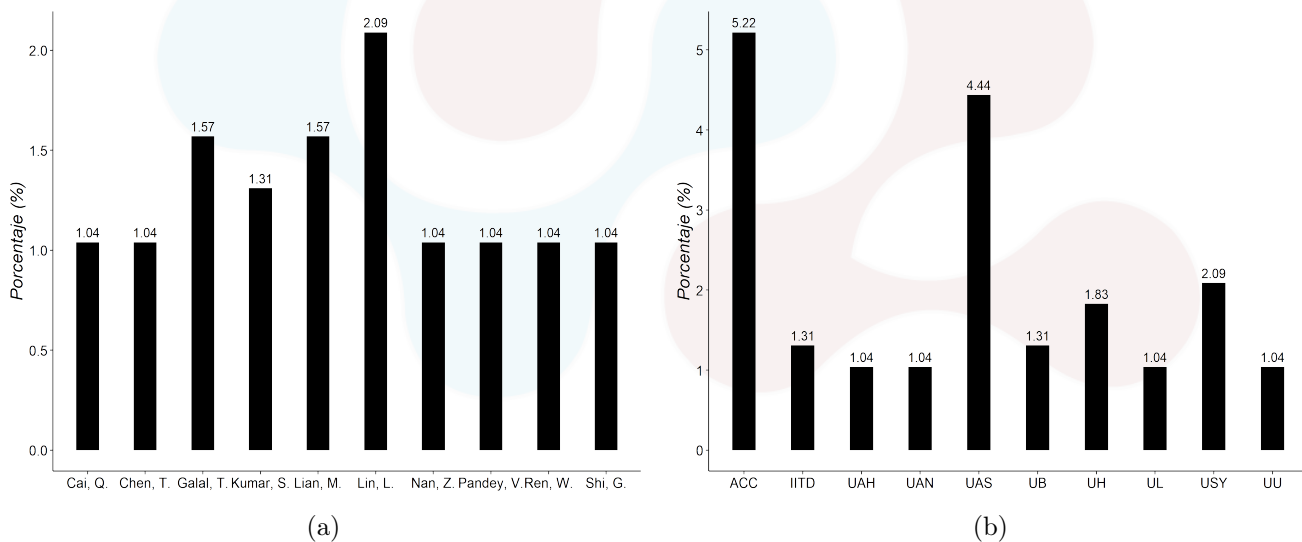


Figura 4: Investigadores e instituciones líderes en la identificación y valoración del potencial fitoextractor de cadmio de especies vegetales en el periodo 1999 – 2019.

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas con dos (02) publicaciones cada una (0,52 %).

### 3.4. Indicadores asociados a la fitoextracción

Los 383 registros hasta el agosto del 2020 acumulaban 7041 citas es probable que existan investigaciones que no fueron consideradas aquí por no estar presentes en SciELO, Redalyc y/o Dimensions.

Las técnicas para la restauración de suelos contaminados con MP pueden clasificarse en métodos físico-químicos y biológicos [3]; estos últimos, a su vez, pueden disgregarse en fitoremediación y bioremediación: el primero involucra el uso de



plantas, mientras el segundo, otros organismos vivos; ambos métodos biológicos persiguen reducir la disponibilidad de las formas dañinas del contaminante o, en su defecto, extraer directamente del suelo el agente tóxico [1, 3]. La fitoextracción es un tipo de fitoremediación; se caracteriza por utilizar plantas con la capacidad de desarrollarse en ambientes ricos en el contaminante, de absorber cantidades superiores del agente nocivo de las presentes en el suelo y, además, tienen la facultad distintiva de asimilarlo por medio de sus raíces y, posteriormente, trasladarlo a sus partes aéreas, lo cual permite que, por medio de un número de cosechas de dichos tejidos, sea posible reducir el contenido del contaminante de manera progresiva [3, 11, 12]. La evaluación de los resultados sugiere que existen tres indicadores comunes para ponderar el potencial fitoextractor de una planta, denominados Factor de Transferencia (FT), de Bioconcentración (FBC) y de Bioacumulación (FBA).

El análisis indica que hay consenso en cuanto al concepto de FT, el cual está definido como la relación entre el contenido del contaminante (CC) determinado en el vástago y en la raíz (Ecuación (1)). Sin embargo, con el FBC la situación es distinta; por ejemplo, Malik y col. [13], Ruiz y Armienta [14], Subhashini y col. [15] y Yoon y col. [16] lo describen como la relación entre el contenido del contaminante registrado en la raíz y en el suelo ( $CC_{raíz} : CC_{suelo}$ ), en cambio, van der Ent y col. [12], como la división entre el contenido del contaminante determinado en el vástago y en el suelo ( $CC_{vástago} : CC_{suelo}$ ), al igual que Wei y col. [17], quienes, por su parte, denominan a este indicador “factor de enriquecimiento” (FC). Por otro lado, Olivares y Peña [18], Ali y col. [11] y Singh y col. [19] denominan al FBC como la razón entre el contenido del contaminante registrado en las partes de la planta destinadas a la cosecha y en el suelo (Ecuación (2)). Relativo al FBA, existen discrepancias respecto a la formulación del concepto, no obstante, la mayoría de los investigadores coinciden en delimitar como el cociente del contenido del contaminante registrado en toda la planta entre el existente en el suelo ( $CC_{planta} : CC_{suelo}$ )

(Ecuación (3)) [11].

$$FT = \frac{CC_{vástago}}{CC_{raíz}} [=] \frac{(mgCd).(kgDM)^{-1}}{(mgCd).(kgDM)^{-1}}, \quad (1)$$

$$FBC = \frac{CC_{TC}}{CC_{suelo}} [=] \frac{(mgCd).(kgDM)^{-1}}{(mgCd).(kg_{suelo})^{-1}}, \quad (2)$$

$$FBA = \frac{CC_{planta}}{CC_{suelo}} [=] \frac{(mgCd).(kgDM)^{-1}}{(mgCd).(kg_{suelo})^{-1}}. \quad (3)$$

Como fue mencionado, en la fitoextracción, el contaminante es removido a través del descarte de los tejidos del vástago sensibles a ser cosechados [1]. Por lo tanto, un desarrollo rápido y abundante de la especie vegetal en cuestión incrementa su potencialidad para ser usada con fines de fitorremediación [20], es decir, a menor sea el tiempo de cosecha de una planta, más rápido serán los ciclos de remoción de MP.

Se notó que la mayoría de los autores no justifican la selección del tiempo de cosecha en sus proyectos; esta variable resulta importante; el establecimiento del tiempo de cosecha es importante, no solo para que terceros puedan replicar en campo el diseño experimental, sino también para evaluar la viabilidad práctica; por ejemplo, Liu y col. [21] y Wei y col. [17] utilizan como tiempo de cosecha el momento en que *Lantana camara* L. y *Solanum nigrum* L. alcanzan su madurez sexual. Pernía [2] determina concretamente el “número óptimo de días antes de la cosecha”, el cual es definido como el momento en que el porcentaje de remoción (%R) del contaminante del sustrato no varía; es supuesto que, alcanzado este instante, la planta alcanzó su máxima capacidad de remoción del agente tóxico del sustrato y, en consecuencia, puede cosecharse.

El %R será calculado mediante la expresión descrita en la Ecuación (4), donde “ $CC_{suelo_x}$ ” se refiere a la concentración del contaminante en el sustrato en un tiempo posterior del inicio del experimento, mientras que “ $CC_{suelo_0}$ ” es la concentración del contaminante en el sustrato en el momento inicial del mismo.

$$\%R = \left( \frac{CC_{suelo_x}}{CC_{suelo_0}} \right) * 100 \% \quad (4)$$

Posteriormente, conviene establecer el número de cosechas necesarias para reducir los niveles del contaminante en el sustrato hasta valores que estén

dentro de un umbral deseado. Simmons *y col.* [22] definen el “número de cosechas necesarias” ( $NF$ ) como el cociente que resulta tras dividir el “requerimiento de extracción del contaminante” ( $NFCC$ ) y la “remoción del contaminante por cosecha” ( $CCR$ ), definidos en las Ecuaciones 5 y 6, respectivamente. En la Ecuación (5), “ $CC_{suelo_0}$ ” y “ $CC_{suelo_x}$ ” equiparan a los citados en la Ecuación (4), mientras que “ $VS$ ” representa la masa de suelo a remediar. En la Ecuación (6), “ $CCTC$ ” es igual al contenido del contaminante promedio en los tejidos a cosechar; “ $MTC$ ”, a la masa promedio de los tejidos a cosechar por planta; y “ $P$ ”, a la viabilidad o proporción promedio de supervivencia.  $NF$  es representada en la Ecuación (7), hasta los momentos Simmons *y col.* [22] son los únicos autores identificados en la elaboración de un indicador sobre el número de cosechas necesarias para reducir el contenido del contaminante a valores deseables. En consecuencia, para la determinación de  $NF$  es importante planificar eficientemente un plan de fitorremediación.

$$NFCC = (CC_{suelo_0} - CC_{suelo_x}) * VS$$

$$[=] \frac{mgCd}{kgsuelo} * \frac{kgsuelo}{ha}, \quad (5)$$

$$CCR = (MTC) * (CCTC) * (P)$$

$$[=] \frac{gDM}{planta} * \frac{mgCd}{gDM} * \frac{planta}{ha}, \quad (6)$$

$$NF = \frac{NFCC}{CCR}$$

$$[=] \frac{(gCd).(ha)^{-1}}{(gCd).(ha)^{-1}}. \quad (7)$$

La eficiencia fitoextractora de una planta tiene relación proporcional directa con la biomasa que pueda producir y con su capacidad extractora, esta última definida como la concentración del contaminante por unidad de tejido vegetal a cosechar [2, 23, 22, 6, 17]. En este sentido, si es inviable determinar  $NF$  en un diseño experimental, la potencialidad fitoextractora de una planta puede estimarse por medio del producto entre la biomasa producida, la concentración del contaminante en tejidos a cosechar y la densidad de siembra, indicador que es igual a la Ecuación (6); Sánchez *y col.* [24] y Demarco *y col.* [25, 26] aplican la expresión anterior para estimar la capacidad fitoextractora de una planta por área de superficie, lo cual constituye un indicador

de valor para comparar y, en consecuencia, predecir el potencial de una planta para remediar suelos contaminados. Demarco *y col.* [26] nombraron a la Ecuación (6) como “potencial de fitorremoción” (“*phytoremoval potential*”).

Existen evidencias que sugieren una relación negativa entre el contenido edáfico de MP y la biomasa que puede generar una especie [27, 12]. La última variable no solo resulta útil para determinar  $NF$  o el “potencial de fitorremoción”, sino también para evaluar la tolerancia a MP. A este respecto, Jara *y col.* [28] y Long *y col.* [29] emplean el Índice de Tolerancia ( $IT$ ), cuyo modo de cálculo es expresado en la Ecuación (8), donde “ $MTC_x$ ” y “ $MTC_0$ ” representan la biomasa generada por las partes a cosechar tras haber sido sometida la planta a un medio con y sin contaminante en el sustrato. El indicador  $IT$  permite evaluar si el contaminante ejerce efecto sobre la biomasa del tejido a cosechar; valores cercanos o iguales a uno refleja una mayor tolerancia a los MP. De igual modo, es sugerido aplicar este indicador a la raíz para así estudiar sus cambios de biomasa; las evidencias sugieren que un entorno rico en MP puede repercutir negativamente en la biomasa del sistema radicular [2, 27, 29], y la capacidad de fitoextracción de una planta depende, entre otras variables, del alcance horizontal y vertical de su rizósfera.

$$IT = \frac{MTC_x}{MTC_0} [=] \frac{(gDM).(planta)^{-1}}{(gDM).(planta)^{-1}} \quad (8)$$

Por otro lado, se consideró que la razón de la biomasa vástago-raíz ( $BVR$ ), cuya expresión está descrita en la Ecuación (9), puede inducir a error de interpretación. Un cambio en este indicador, tomando como referencia los resultados de un experimento bajo condición de no contaminado o control, puede significar más de un fenómeno; por ejemplo, un incremento de  $BVR$  puede indicar que la biomasa del vástago se conservó, pero la perteneciente a la raíz se redujo, o en cambio, puede sugerir que hubo un incremento de la biomasa del vástago y la de la raíz se conservó. Aunque la evidencia inclina a pensar que un incremento de MP disminuye la biomasa, esto no es una regla rígida; por ejemplo, Sing *y col.* [19] y Long *y col.* [29] demostraron que la biomasa del vástago de las especies *Coronopus didymus* (L.) Sm. y

*Helianthus tuberosus* L., respectivamente, puede experimentar un aumento en aquellos ensayos con Cd en comparación a los tratamientos control.

$$BVR = \frac{M \text{ vástago}}{M \text{ raíz}} \left[ = \right] \frac{(gDM).(planta)^{-1}}{(gDM).(planta)^{-1}} \quad (9)$$

El cadmio es un metal que en solución está bajo la forma de  $Cd^{+2}$ , su interacción con especies orgánicas e inorgánicas en suspensión resulta en la formación de complejos solubles. Dentro del grupo de metales pesados es el que tiene mayor movilidad en suelo [30, 31]. Las evidencias sugieren una relación entre las propiedades del sustrato y la biodisponibilidad de Cd, parámetros como el pH, la capacidad de intercambio catiónico, salinidad, proporciones de arcilla y materia orgánica están entre los factores con mayor influencia en su disponibilidad edáfica [2, 30, 31, 32, 24, 33, 34]. Un diseño experimental destinado a evaluar la capacidad fitoextractora de una planta debe medir las propiedades físicas y químicas del suelo con el objetivo de pronosticar la biodisponibilidad del Cd. Adicionalmente, conviene discernir entre “contaminante biodisponible” [30, 32, 34] y “concentración total del contaminante” en suelo [31].

### 3.5. Metodologías para la medición de los indicadores asociados a la fitoextracción

Antes de proponer a una especie vegetal para fines de fitorremediación, las metodologías de valoración sugieren primero evaluar bajo Solución Nutritiva Artificialmente Contaminada (*SOLAC*), en Suelo Artificial (*SAC*) y Naturalmente Contaminado (*SNC*) Van der Ent y col. [12], Sánchez y col. [24] mencionan que una cantidad significativa de los experimentos realizados en China se basan en ensayos *SOLAC*. Sin embargo, el análisis del estudio de tendencia indica un incremento de los experimentos tipos *SAC* y *SNC* en la misma nación y en otros países. Estos tres tipos de ensayos experimentales deben seguir un orden, requiriéndose realizar primero evaluaciones *SOLAC*.

En cuanto a la disponibilidad del contenido edáfico de cadmio al sistema radicular de las plantas circundantes, se ha observado que no está cien por ciento disponible [32]. Concluir que una

planta no es fitoextractora, cuando dicho rasgo fue evaluado solo en suelo, no es significativo debido a la posibilidad de que la biodisponibilidad del Cd haya estado comprometida por las interacciones edáficas. Los ensayos tipo *SOLAC* exponen a la especie vegetal bajo estudio al cien por ciento del MP; los rasgos nativos asociados a la fitoextracción pueden evaluarse bajo estas condiciones porque es suprimido el efecto que tienen las interacciones del suelo con el MP de interés [2]. De acuerdo a las evaluaciones realizadas, las preparaciones hidropónicas destinadas a las pruebas tipo *SOLAC* consisten en soluciones nutritivas con diferentes concentraciones del MP. Fue registrado que la solución nutritiva de mayor elección por parte de los investigadores es la denominada “Solución de Hoagland”; aunque los autores no dan detalles del por qué su selección, presumimos que es debido a que ésta ha demostrado ser útil para la nutrición de un espectro amplio de especies vegetales. No obstante, fueron identificadas algunas alternativas como, por ejemplo, las soluciones usadas por Yan y col. [35] y Pernía y col. [27].

En los estudios tipo *SOLAC*, es conveniente conservar un pH y volumen de solución constante, así como un suministro de oxígeno regular para reducir las fuentes de variabilidad; adicionalmente, las plántulas a utilizar en estos experimentos deben provenir de sustratos no contaminados con el MP a evaluar [35], pues el metal contenido ya en las plantas podría sobrestimar las mediciones finales. Debe tomarse en cuenta el tiempo de aclimatación de las plántulas antes de ser expuestas al contaminante. El trasplante, así como el cambio repentino de condiciones ambientales, genera estrés a la especie vegetal en estudio [36, 37]. Con el propósito de que la tensión no sea fuente de variabilidad ni de mortalidad, se sugiere la aclimatación de las plántulas en el envase y en la solución nutritiva final antes de adicionar el MP, se notó que el tiempo de aclimatación varía de un autor a otro, puntos de referencia pueden ser los trabajos de Fan y col. [38], Zhang y col. [39] y Yang y col. [35], quienes optaron por lapsos de siete, diez y catorce días, respectivamente.

Los ensayos tipo *SOLAC*, además de ser una herramienta eficaz para evaluar FT e IT, permiten hacer una primera estimación del “número óptimo



de días antes de la cosecha” (*NOC*). Pernía [2], por ejemplo, estudia la evolución del contenido de Cd en solución nutritiva durante un tiempo de sesenta días, realizando mediciones a los 5, 15, 30 y 60 días, y, por medio de %*R*, sugirió un *NOC* para *Amaranthus lividus* y *Wedelia trilobata*. Debido a que las condiciones SOLAC son ideales, es decir, apartadas de las condiciones naturales, en consecuencia, es probable que el *NOC* estimado en experimentos SOLAC difiera de aquel que podría obtenerse bajo ensayos tipo *SAC* o *SNC*. No obstante, el enfoque experimental dado por autores como Pernía [2] brinda las bases para replicarlo en suelo y así valorar *NOC* en condiciones más naturales, lo cual representa un paso para hacer de la fitorremediación una herramienta práctica.

Es relevante prestar atención a los ensayos tipo *SAC* y *SNC*, en especial a los segundos, por constituir las fuentes de información de mayor riqueza a la hora de discernir si la fitorremediación es viable o no para un terreno determinado. Los experimentos *SAC* brindan una primera perspectiva del comportamiento de la planta bajo condiciones contaminadas controladas; un gradiente de contaminación da información de los valores máximos del agente tóxico que puede tolerar la especie vegetal antes de observar en ella daños significativos sobre la biomasa [2, 17, 19, 21, 40, 41], lo cual, a su vez, daría indicio de los límites máximos del MP que debe contener el suelo naturalmente contaminado donde va a ser destinada la planta fitorremediadora.

Al mismo tiempo, los ensayos *SAC* representan el primer escenario para la determinación de *NOC* en condiciones más reales. No obstante, en el periodo de estudio no se observaron publicaciones con ese objetivo. Si el interés es abordar una labor de esta naturaleza, se sugiere que el suelo no contaminado a emplear comparta el mayor número posible de condiciones edáficas con el suelo a fitorremediar. Para estos casos el diseño experimental debería medir los niveles edáficos del contaminante en diferentes tiempos para medir las concentraciones totales y/o biodisponibles, lo cual permitiría estudiar la evolución de %*R*, contemplando realizar la primera medición justo antes del trasplante de las plántulas al sustrato contaminado.

En los experimentos *SAC* al igual que en los ensayos SOLAC debe considerarse un tiem-

po de aclimatación. A este respecto destacan 2 estrategias, en la primera con la finalidad de estabilizar el MP, combinan las muestras de suelo con el MP, la mezcla se deja reposar un lapso de tiempo y luego se realiza el trasplante de las plántulas [19, 17, 21, 42, 43]. En la segunda, se siembran las plántulas, se dejan aclimatar y por último adicionan el contaminante [40, 41].

Estabilizar el MP en el suelo tiene como fin emular condiciones más naturales en el estudio, la evidencia sugiere que la movilidad de MP, al menos para el caso del Cd, disminuye con el tiempo a consecuencia de las interacciones con el suelo, es decir, las fuerzas de atracción entre MP y partículas edáficas se consolidan progresivamente [44]. Con la finalidad de realizar los experimentos en las condiciones más próximas a las naturales, es pertinente priorizar la estabilización del MP al sustrato antes del trasplante de las plántulas, a pesar de que esta última pueda exponer a las plantas a un mayor grado de estrés [36]. Para contrarrestar el impacto se pueden emplear semillas en vez de plántulas, garantizando un mismo contexto ambiental para el desarrollo de la especie vegetal. Además de brindarle la posibilidad a la planta de desarrollar un sistema radicular de mayor profundidad [45]. Algunos investigadores que emplearon semillas son García y col. [46], Ruiz y Armienta [47], Sánchez y col. [24], Almeida y col [47] y Delince y col [48]. En relación al tiempo que debe estabilizarse el sustrato contaminado antes de la siembra de la especie vegetal, no hay consenso entre los investigadores evaluados. Existen reportes de dos semanas [17, 19], cuatro semanas [42, 43] y de tiempos de estabilización elevados, de tres meses [21].

La eficiencia de la fitoextracción está relacionada con las características de la planta y del suelo [1, 3, 31], por ejemplo, Van der Ent y col. [12] citan que una amplia cantidad de suelos enriquecidos con Cd también lo son en Zn. Por lo tanto, la planta fitorremediadora debe ser tolerante a ambos MP; esto sugiere la envergadura de particularizar los experimentos a los suelos de interés. Los ensayos tipo *SNC* darán al investigador las condiciones más reales posibles y, en consecuencia, las conclusiones más irrefutables. Idealmente, deben llevarse a cabo en el lugar que se desea restaurar, pero dado lo poco práctico que resulta esto último en ocasiones,

la recomendación es trasladar las muestras del suelo contaminado a los campos experimentales, procurando que estos últimos compartan condiciones climáticas similares con el lugar de origen del sustrato. Al respecto, Zhang *y col.* [41] y Wei *y col.* [17] emplean albercas de superficies de cuatro y ocho metros cuadrados conteniendo “tierra superficial”, el término es subjetivo, pero que indica hasta qué profundidad deben tomarse las muestras de sustrato.

Los MP edáficos tienen movilidad limitada en suelo, y es considerado que, cuando el origen de esta contaminación es antrópico, estos agentes tóxicos suelen persistir en las capas superficiales durante largo tiempo; por ejemplo, Simmons *y col.* [22], en un trabajo previo, demostraron que cerca del 70 % del Cd edáfico antrópico en una región de Tailandia está albergada en los primeros 20 cm de profundidad del suelo.

Aunque, en efecto, los artículos revisados sugieren que la mayoría de los autores utilizan muestras de suelo a profundidades máximas de 20 cm, hay que considerar que este valor no debería tenerse como regla rígida porque, como fue mencionado, la movilidad de los MP depende de las particularidades del suelo [30]. En este sentido, es sugerido hacer una medida de los niveles del MP de interés antes de decidir la profundidad máxima a la que serán colectadas las muestras de sustrato. Finalmente, y lo que continúa es también válido para los ensayos tipo SAC, debe evitarse el estrés hídrico en las plantas bajo estudio, pues la evidencia sugiere que esta condición, al promover el cierre de los estomas, puede disminuir la movilidad de los MP a las partes del vástago de las plantas [20, 37].

Las técnicas de espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP–AES) y la espectrometría de absorción atómica (AAS) son las herramientas más utilizadas para la determinación de cadmio edáfico y en tejido vegetal. El tratamiento previo de las muestras es un aspecto importante. Con la finalidad de no sobrestimar las medidas, los investigadores indican que es necesario lavar los tejidos vegetales antes del secado, en el caso particular de las raíces, éstas deben ser sumergidas en una solución que permita la remoción de trazas de metales superficiales. Sun *y col.* [42] y Fan *y col.* [38] emplean soluciones de HCl 0.01 M y Na<sub>2</sub> – EDTA 0.001 M, respectivamente.

Posterior al lavado y secado, los tejidos vegetales deben ser pulverizados para proceder con la digestión, con una solución ácida. Un proceso adicional fue realizado por Sánchez *y col.* [24], antes de la digestión de las muestras vegetales, las incineran a 450°C, por lo tanto, es la ceniza resultante el material a digerir. La revisión permitió identificar varios procesos de tratamiento y de insumos en la disolución del Cd, La solución ácida empleada, así como la dirección a seguir para la disolución del Cd, es variada entre los distintos trabajos evaluados.

Es frecuente el uso de una mezcla de HNO<sub>3</sub> / HClO<sub>4</sub> para la digestión de tejidos vegetales. No obstante, también se han empleado otras mezclas por ejemplo, Pernía *y col.* [27], Bhatti *y col.* [49] y Grispen *y col.* [50] usaron soluciones de HNO<sub>3</sub> / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3:1, v/v), HNO<sub>3</sub> / HClO<sub>4</sub> / H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5:1:1, v/v) y HNO<sub>3</sub> / HCl (4:1, v/v), respectivamente. Papazoglou [40] y Bhatti *y col.* [49] ofrecen descripciones detalladas del cómo digerir los tejidos vegetales.

En relación a las medidas de Cd edáfico, es citado de nuevo que conviene diferenciar entre “Cd Total” (CT) de “Cd Biodisponible” (CB); el tratamiento previo del suelo, antes del análisis del contenido de Cd, es definido en función de cuál indicador se desea determinar. La mayoría de los autores limitan sus esfuerzos a la medición de CT; posterior al secado y tamizado de las muestras de suelo, la digestión del sustrato edáfico entraña la mezcla de éste con una solución ácida. Similar al tratamiento de tejidos vegetales, los investigadores pueden emplear también mezclas ácidas, tales como HNO<sub>3</sub> / HClO<sub>4</sub> [17, 42], HNO<sub>3</sub> / HCl [49, 50], HNO<sub>3</sub> / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [40] y HNO<sub>3</sub> / HCl / HClO<sub>4</sub> [21, 39] para la digestión de las muestras edáficas, tras lo cual procede el filtrado y aforado de la solución resultante con agua desionizada.

Por otro lado, y si hay interés en la determinación de CB, el método de extracción comúnmente empleado por los autores identificados es la técnica con ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) [31]. Los trabajos de Sing *y col.* [19] y Papazoglou [40] pueden consultarse para mayor detalle.

El comportamiento en el cual los MP y sus complejos, quedan adsorbidos a diferentes fracciones del suelo se conoce como “especiación química

operacional” [51]. Las fracciones del suelo donde los MP estén menos adsorbidos son aquellas que representan un riesgo ambiental, pues los liberan fácilmente [33, 34, 52, 51] y deberían ser la prioridad de estudio para la determinación del *CB*.

Hasta los momentos no se ha visualizado un protocolo estándar o “mejor” para identificar y determinar los contenidos de MP asociados a estas fracciones [51, 53, 54]. Sin embargo, y en vista de que urge la necesidad de estandarizar los procesos para comparaciones acertadas entre trabajos científicos, indicamos que la metodología expuesta por Rauret *y col.* [53], denominada “extracción secuencial BCR”, ha sido adoptada en varias instituciones [33, 51]. Aunque aún existe la necesidad de profundizar en esta materia, la sugerencia es que para la determinación de *CB*, los métodos de extracción BCR y mediante el uso de DTPA son las técnicas que mejor parecen satisfacer las demandas de la comunidad científica. El presente trabajo considera priorizar la determinación de *CB*; en caso de optar por este último indicador; además recomienda la determinación de *FBC*, *FBA* y/o *NF* con éste, lo cual permitiría extraer conclusiones más reales en cuanto a la capacidad fitoextractora de una planta.

### 3.6. Plantas fitoextractoras asociadas a clima de bósque húmedo tropical

De acuerdo a la clasificación climática de Köppen y Geiger (1928), bosque húmedo tropical (*Af*) es definido como aquel entorno climático cuyo mes más frío tiene una temperatura promedio por encima o igual a 18°C y cuyo mes más seco recibe una precipitación total igual o mayor a 60 mm [55]. Los suelos de estas regiones son sensibles también a los afluentes de MP, desde donde pueden ingresar a la cadena trófica terrestre por medio de plantas capaces de absorberlos a través de sus sistemas radiculares; tales son los casos del tabaco (*Nicotiana tabacum* L., especie comercial principal) y del cacao (*Theobroma cacao* L.), cuyos rubros explotables han demostrado ser fuentes de Cd [56, 57]. Como fue ya citado, el potencial fitoextractor de una planta tiene relación positiva con la proporción promedio de supervivencia (*P*) de la especie vegetal

bajo estudio (Ecuación (6)). Este último indicador depende de otros factores, tales como los regímenes de precipitación y temperatura, referidos como las dos condiciones principales que definen el bioma o estructura vegetal de una región [58]. Dicho todo lo anterior, plantas ya identificadas como fitoextractoras de MP en una zona *Af* podrían replicar sus cualidades en otros sectores *Af*, pues, al disfrutar de las mismas condiciones climáticas, es reducida la probabilidad de disminuir *P*, lo cual incrementa la posibilidad de que, al replicar los ensayos en estas otras regiones *Af*, éstas puedan remediar suelos con MP.

La evidencia sugiere que el potencial fitoextractor de MP de una planta varía entre las poblaciones de ésta [12, 23]; cuando un investigador concluye que una especie vegetal es fitoextractora no significa que todas sus variedades posean dicho rasgo. Por lo tanto, si es deseable replicar los valores de fitoextracción obtenidos con una población de una especie usada por un autor, lo ideal sería importar a la zona de estudio la misma variedad utilizada, pero destaca que la introducción de materiales genéticos foráneos ha demostrado ser una táctica que exige cautela; casos como la gramínea *Cortaderia selloana* (Schultes & Schultes) Aschers & Graebn y la pontederiácea *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, en el Reino de España [59, 60], invitan a reflexionar sobre los riesgos que existen en esta materia. Si es considerado la introducción de una especie vegetal fitoextractora en la República Bolivariana de Venezuela, deben seguirse las pautas citadas en las Leyes Orgánicas de Diversidad Biológica y de la Gestión de la Diversidad Biológica emitidas en los años 2000 y 2008 en el Palacio Federal Legislativo de Venezuela, respectivamente.

La sugerencia es identificar plantas reportadas como fitoextractoras por otros investigadores y que estén clasificadas como especies nativas o naturalizadas [61] dentro de la jurisdicción de Venezuela para corroborar, posteriormente, si estas poblaciones nacionales tienen potencial fitorremediador similar a los citados en la literatura; el enfoque expuesto, además de ahorrar los posibles riesgos de introducir una especie exótica, brinda la posibilidad de usar variedades adaptadas a las condiciones climáticas regionales de la nación.



Los resultados sugieren que las especies *Solanum nigrum* L. (Solanaceae) [17], *Amaranthus lividus* (Amaranthaceae) [2], *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski (Asteraceae) [27], *Lantana camara* L. (Verbenaceae) [21], *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) [42], *Elephantopus molis* Kunth (Asteraceae) [62], *Senna alata* (L.) Roxb. (Fabaceae) [63] y *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) [38] cumplen con los parámetros expuestos. Pernía y col. [27, 2] evaluaron el potencial fitoextractor de las especies *A. lividus* y *S. trilobata* con poblaciones venezolanas, las otras seis especies han sido reportadas en Venezuela de acuerdo a los registros del Jardín Botánico de Caracas, Distrito Capital (Venezuela), y/o a los del “Global Biodiversity Information Facility” (GBIF).

En relación a la clasificación de especie naturalizada o natural de estas plantas en Venezuela, no fueron encontrados antecedentes bibliográficos. En el Herbario Virtual “REFLORA”, del Jardín Botánico de Río de Janeiro (Brasil), las especies *S. trilobata* y *S. macrophylla* están catalogadas como nativas de Brasil, mientras que *L. camara* y *B. pilosa* están clasificadas como naturalizadas; considerando el parecido climático y la cercanía física que hay entre Venezuela y Brasil, puede sugerirse que estas especies existen en Venezuela bajo las mismas etiquetas. En consecuencia es recomendable en el caso de existir interés de emprender proyectos relativos a la identificación de plantas fitoextractoras en Venezuela, evaluar los indicadores de fitoextracción citados en las poblaciones nacionales de las plantas mencionadas aquí.

Además de las especies nombradas, Regalado y col. [64] reportan a la gramínea *Cynodon nlemfuensis* Vanderyst como hiperacumuladora de Cd; el portal GBIF indica que esta poácea no ha sido registrada en Venezuela, pero la ubica en Colombia y en Brasil, y, además, el trabajo de Miliani y col. [65] sugiere que dicha especie se encuentra en territorio venezolano, de ser así podría adjuntarse a la lista.

Finalmente debe tenerse en cuenta la profundidad de las raíces del rubro vegetal al que serán destinadas las tierras luego del programa de fitorremediación, pues esta herramienta solo removerá los MP que entren en contacto con el sistema radicular de

las plantas fitoextractoras. Por ejemplo, suelos fitorremediados con *S. nigrum*, cuyas raíces alcanzan profundidades de hasta 50 cm [17], podrían pensarse para el cultivo del tabaco, cuyo sistema radicular llega a distancias verticales entre los 40 y 60 cm [66]. Un reto es la remoción de MP de suelos designados a rubros con raíces muy profundas; en esta materia, la denominada “dendrorremediación” [20], es decir, el empleo de árboles capaces de extraer contaminantes del sustrato, representa un campo nuevo y dinámico. Los trabajos de Fan y col. [38] y Silva y col. [63], cuyas especies vegetales bajo estudio fueron *S. macrophylla* y *S. alata*, respectivamente, podrían brindar orientaciones útiles para evaluar los indicadores de fitoextracción de las poblaciones nacionales de estos árboles con el propósito de explorar la posibilidad de recomponer suelos agrícolas contaminados con Cd a profundidades considerables.

## 4. Conclusiones

Los indicadores para medir la capacidad fitoextractora de MP de una planta son los factores de bioconcentración, bioacumulación y transferencia, así como el “número de cosechas necesarias” y el “índice de tolerancia”. Para la elaboración de todos los indicadores, es conveniente determinar los contenidos biodisponibles del contaminante en el sustrato. Los estudios deben utilizar “soluciones artificialmente contaminadas”, con “suelo artificialmente contaminado” y con “suelo naturalmente contaminado”; los primeros someten a la especie vegetal bajo estudio al cien por ciento de estrés, con lo cual puede evaluarse los rasgos nativos de fitoextracción. En cambio, los últimos, al ponderar la capacidad fitoextractora de la planta bajo entornos más reales, brindaran las conclusiones más irrefutables. Para tener mayor amplitud de decisión en cuanto a la viabilidad del empleo de una planta como fitoextractora en un determinado suelo es necesario realizar los tres ensayos experimentales. Respecto al Cd, al momento de evaluar sus contenidos en tejidos vegetales y en el sustrato, la espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente o el de la espectrometría de absorción atómica son las técnicas más recomendadas.



Las posibles especies vegetales que pueden tener potencial como fitoextractoras dentro de la República Bolivariana de Venezuela son *Solanum nigrum* L. (Solanaceae), *Amaranthus lividus* (Amaranthaceae), *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski (Asteraceae), *Lantana camara* L. (Verbenaceae), *Bidens pilosa* L. (Asteraceae), *Elephantopus molis* Kunth (Asteraceae), *Senna alata* (L.) Roxb. (Fabaceae) y *Swietenia macrophylla* (Meliaceae).

## 5. Agradecimientos

Sebastián Cestari da su agradecimiento a la Doctora Beatriz Pernía, de la Universidad de Guayaquil, Ecuador, por sus orientaciones.

## Referencias

- [1] J. Suman, O. Uhlik, J. Viktorova, and T. Macek. Phytoextraction of heavy metals: A promising tool for clean-up of polluted environment? *Frontiers in Plant Science*, 9, 2018.
- [2] B. Pernía. *Respuestas a la exposición al cadmio y su tasa de acumulación en plantas de Amaranthus lividus, Phaseolus vulgaris y Wedelia trilobata*. Tesis doctoral, Universidad Simón Bolívar, Baruta, Edo. Miranda, Venezuela, 2013.
- [3] S. Ashraf, Q. Ali, Z. A. Zahir, S. Ashraf, and H. N. Asghar. Phytoremediation: Environmentally sustainable way for reclamation of heavy metal polluted soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174(February):714–727, 2019.
- [4] Environmental Protection Authority Tasmania. Classification and management of contaminated soil for disposal, 2018.
- [5] T. Crommentuijn, D. Sijm, J. de Bruijn, M. van der Hoop, K. van Leeuwen, and E. van de Plassche. Maximum permissible and negligible concentrations for metals and metalloids in the netherlands, taking into account background concentration. *Journal of Environmental Management*, 60:121–143, 2000.
- [6] T. Sterckeman, L. Gossiaux, S. Guimont, and C. Sirguey. How could phytoextraction reduce Cd content in soils under annual crops? Simulations in the French context. *Science of the Total Environment*, 654:751–762, 2019.
- [7] S. Cheng, M. Wang, S. Li, Z. Zhao, and W. E. Overview on current criteria for heavy metals and its hint for the revision of soil environmental quality standards in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(4):765–774, 2018.
- [8] Q. Mahmood, M. Asif, S. Shaheen, M. T. Hayat, and S. Ali. *Cadmium contamination in water and soil*. Elsevier Inc., 2019.
- [9] S. Cestari, S. Villanueva, N. Tellería, and M. Henríquez. Evaluation of cadmium phytoextraction potential of plants - research articles and investigation leaders (researchers, institutes and countries), August 2020. [Data set] DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4016897>.
- [10] R. Core Team. *R: a language and environment for statistical computing*. Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria, 2020.
- [11] H. Ali, E. Khan, and M. A. Sajad. Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7):869–881, 2013.
- [12] A. van der Ent, A.J.M. Baker, R. D. Reeves, A. J. Pollard, and H. Schat. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant and Soil*, 362(1-2):319–334, 2013.
- [13] R. N. Malik, S. Z. Husain, and I. Nazir. Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 42(1):291–301, 2010.
- [14] E. Ruiz and M. Armienta. Acumulación de arsénico y metales pesados en maíz en suelos cercanos a jales o residuos mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28(2), 2012.

- [15] V. Subhashini, A. Swamy, and K. Hema. Phytoremediation: emerging and green technology for the uptake of cadmium from the contaminated soil by plant species. *International Journal of Environmental Sciences*, 4(6):193–204, 2013.
- [16] J. Yoon, X. Cao, Q. Zhou, and L. Q. Ma. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment*, 368(2-3):456–464, 2006.
- [17] S. Wei, Q. Zhou, X. Wang, K. Zhang, G. Guo, and L. Q. Ma. A newly-discovered Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Chinese Science Bulletin*, 50(1):33–38, 2005.
- [18] E. Olivares and E. Peña. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del Estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia*, 34(9), 2009.
- [19] G. P. Singh, H. P. Singh, D. R. Batish, and R. K. Kohli. Tolerance and hyperaccumulation of cadmium by a wild, unpalatable herb *Coronopus didymus* (L.) Sm. (Brassicaceae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 135(September 2016):209–215, 2016.
- [20] J. A. González, M. A. Rozas, I. Alkorta, and C. Garbisu. Dendroremediation of heavy metal polluted soils. *Reviews on Environmental Health*, 23(3):223–234, 2008.
- [21] S. Liu, S. Ali, R. Yang, J. Tao, and B. Ren. A newly discovered Cd-hyperaccumulator *Lantana camara* L. *Journal of Hazardous Materials*, 371:233–242, 2019.
- [22] R. W. Simmons, R. L. Chaney, J. S. Angle, M. Kruatrachue, S. Klinphoklap, R. D. Reeves, and P. Bellamy. Towards practical cadmium phytoextraction with *Noccaea caerulea*. *International Journal of Phytoremediation*, 17(2):191–199, 2014.
- [23] D. M. Deng, J. C. Deng, J. T. Li, J. Zhang, M. Hu, Z. Lin, and B. Liao. Accumulation of Zinc, Cadmium, and Lead in four populations of *Sedum alfredii* growing on Lead/Zinc mine spoils. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(6):691–698, 2008.
- [24] M. Sánchez, R. Darío, H. Martínez, C. Eugenia, and R. Barahona. Biomass production and heavy metal absorption by four plants grown at the Moravia dump, Medellín, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 15(2):271–288, 2010.
- [25] C. Demarco, T. Afonso, S. Pieniz, M. Quadro, F. Camargo, and R. Andrezza. *In situ* phytoremediation characterization of heavy metals promoted by *Hydrocotyle ranunculoides* at Santa Bárbara stream, an anthropogenic polluted site in southern of Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 25:28312–28321, 2018.
- [26] C. Demarco, T. Afonso, S. Pieniz, M. Quadro, F. de Oliveira, and R. Andrezza. Phytoremediation of heavy metals and nutrients by the *Sagittaria montevidensis* into an anthropogenic contaminated site at southern of Brazil. *International Journal of Phytoremediation*, 21(11), 2019.
- [27] B. Pernía, M. Calabokis, K. Noris, and J. Bubis. Effects of cadmium in plants of *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski. *Bioagro*, 31(2):133–142, 2019.
- [28] E. Jara, J. Gómez, H. Montoya, M. Chanco, M. Mariano, and N. Cano. Capacidad fitorremediadora de cinco especies altoandinas de suelos contaminados con metales pesados. *Revista Peruana de Biología*, 21(2):145–154, 2014.
- [29] X. Long, N. Ni, L. Wang, X. Wang, J. Wang, Z. Zhang, R. Zed, Z. Liu, and H. Shao. Phytoremediation of cadmium-contaminated soil by two Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) genotypes. *Clean - Soil, Air, Water*, 41(2):202–209, 2013.
- [30] A. Kubier, R. Wilkin, and T. Pichler. Cadmium in soils and groundwater: a review. *Applied Geochemistry*, 108, February 2019.
- [31] M. B. Kirkham. Cadmium in plants on polluted soils: effects of soil factors, hyperaccumulation,

- and amendments. *Geoderma*, 137(1-2):19–32, 2006.
- [32] M. K. Amjab, S. Khan, A. Khan, and M. Alam. Soil contamination with cadmium, consequences and remediation using organic amendments. *Science of the Total Environment*, 601-602:1591–1605, 2017.
- [33] A. González. Contenido de metales pesados en suelos de una hacienda de la región de barlovento, evaluación del posible efecto antrópico de la inundación del río Tuy. Trabajo de Grado de Maestría, Universidad Central de Venezuela, 2018.
- [34] R. Henríquez. Caracterización geoquímica de metales pesados en los sedimentos de fondo de la cuenca del río Tuy, Venezuela. Trabajo de Grado de Maestría, Universidad Central de Venezuela, 2011.
- [35] X. E. Yang, X. X. Long, H. B. Ye, Z. L. He, D. V. Calvert, and P. J. Stoffella. Cadmium tolerance and hyperaccumulation in a new Zn-hyperaccumulating plant species (*Sedum alfredii* Hance). *Plant and Soil*, 259(1-2):181–189, 2004.
- [36] A. Gil, S. López, and A. López. Acclimation *in vitro* seedlings of *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. (Gesneriaceae) “african violet” to greenhouse conditions. *Arnaldoa*, 24(1):343–350, 2017.
- [37] W. Hopkins and N. Hüner. *Introduction to plant physiology*. Wiley, third edition, 2003.
- [38] K. C. Fan, H. C. Hsi, C. W. Chen, H. L. Lee, and Z. Y. Hseu. Cadmium accumulation and tolerance of mahogany (*Swietenia macrophylla*) seedlings for phytoextraction applications. *Journal of Environmental Management*, 92(10):2818–2822, 2011.
- [39] X. Zhang, S. Zhang, X. Xu, T. Li, G. Gong, Y. Jia, Y. Li, and L. Deng. Tolerance and accumulation characteristics of cadmium in *Amaranthus hybridus* L. *Journal of Hazardous Materials*, 180(1-3):303–308, 2010.
- [40] E. Papazoglou. Ecotoxicology and environmental safety responses of *Cynara cardunculus* L. to single and combined cadmium and nickel treatment conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(2):195–202, 2011.
- [41] S. Zhang, H. Lin, L. Deng, G. Gong, Y. Jia, X. Xu, T. Li, Y. Li, and H. Chen. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Siegesbeckia orientalis* L. *Ecological Engineering*, 51:133–139, 2013.
- [42] Y. Sun, Q. Zhou, L. Wang, and W. Liu. Cadmium tolerance and accumulation characteristics of *Bidens pilosa* L. as a potential Cd-hyperaccumulator. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2-3):808–814, 2009.
- [43] X. Zhang, B. Gao, and H. Xia. Effect of cadmium on growth, photosynthesis, mineral nutrition and metal accumulation of banana grass and vetiver grass. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 106:102–108, 2014.
- [44] J. Marković, M. Jović, I. Smičiklas, M. Šljivić-Ivanović, A. Onjia, K. Trivunac, and A. Popović. Cadmium retention and distribution in contaminated soil: effects and interactions of soil properties, contamination level, aging time and *in situ* immobilization agents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 174(February):305–314, 2019.
- [45] M. Arvelo, D. González, S. Maroto, T. Delgado, and P. Montoya. *Manual del cultivo de cacao, buenas prácticas para América Latina*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2017.
- [46] E. García, E. García, L. Juárez, L. Juárez, J. Montiel, and M. Gómez. Response of broad bean (*Vicia faba* L.) grown in soil polluted with different cadmium concentrations. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(2), 2012.
- [47] L. Almeida, D. Meireles, A. de Paula, K. Dázio, L. Guimarães, and J. Donizeti. Synergy between cadmium and zinc in bean plants cultivated in multi contaminated soils. *Acta Scientiarum, Agronomy*, 41, 2018.

- [48] W. Delince, R. Valdéz, O. López, F. Gurudi, and M. Balbín. Heavy metals agroenvironmental risk in soils with cultivated *Oryza sativa* L. and *Solanum tuberosum* L. *Revista Científica Técnicas Agropecuarias*, 24(1), 2015.
- [49] S. S. Bhatti, V. Kumar, V. Sambyal, J. Singh, and A. K. Nagpal. Comparative analysis of tissue compartmentalized heavy metal uptake by common forage crop: A field experiment. *Catena*, 160(November 2016):185–193, 2018.
- [50] V. M.J. Grispen, H. J.M. Nelissen, and J. A.C. Verkleij. Phytoextraction with *Brassica napus* L.: a tool for sustainable management of heavy metal contaminated soils. *Environmental Pollution*, 144(1):77–83, 2006.
- [51] M. del Pilar. Distribución de los metales pesados (v, cr, zn, mn, fe, cd, co, ni, cu y pb) asociados a la fracción lodo de los sedimentos de fondo de la cuenca del río Tuy, Venezuela, empleando extracción selectiva. Trabajo de Grado de Maestría, Universidad Central de Venezuela, 2014.
- [52] A. Meter, R. Atkinson, and B. Laliberte. *Cadmium in cacao from Latin America and the Caribbean, a review of research and potential mitigation solutions*. Biodiversity International, Roma, Italia, 2019.
- [53] G. Rauret, J. López, A. Sahuquillo, R. Rubio, C. Davidson, A. Ure, and Ph Quevauviller. Improvement of the bcr three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials. *Journal of Environmental Monitoring*, 1:57–61, 1998.
- [54] E. Chávez, Z. He, P. Stoffela, R. Mylavaram, Y. Li, B. Moyano, and V. Baligar. Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Science of the Total Environment*, 533:205–214, 2015.
- [55] L. de Oliveira, G. de Souza, J. Richetti, P. de Souza, and J. Adriani. Köppen, Thornthwaite and Camargo climate classifications for climatic zoning in the State of Paraná, Brazil. *Ciencia y Agrotecnología*, 40(4):405–417, 2016.
- [56] J. Pérez, I. Castillo, and D. Paz. Assimilation of cadmium and lead for *Nicotiana tabacum* variety "Criollo 98" cultivated in soil artificiality contaminated. Part II: cumulated of heavy metals. *Centro Agrícola*, 34(3):45–51, 2007.
- [57] D. Argüello, E. Chavez, F. Laurysen, R. Vanderschueren, E. Smolders, and D. Montalvo. Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of the Total Environment*, 649:120–127, 2019.
- [58] T. Smith and R. Smith. *Elements of Ecology*. Pearson, China, 9 ed edition, 2014.
- [59] T. Ruiz, E. De Rodrigo, G. Lorenzo, E. Albano, R. Morán, and J. Sánchez. The water hyacinth, *Eichhornia crassipes*: An invasive plant in the Guadiana River Basin (Spain). *Aquatic Invasions*, 3(1):42–53, 2008.
- [60] R. Domènech and M. Vilà. *Cortaderia selloana* invasion across a Mediterranean coastal strip. *Acta Oecologica*, 32(3):255–261, 2007.
- [61] L. Regalado, L. González, I. Fuentes, and R. Oviedo. Las plantas invasoras, introducción a los conceptos básicos. *Bissea*, 6(1):1–20, 2012.
- [62] F. Schmidt, M. Azzolini, and A. Molina. Scanning cadmium photosynthetic responses of *Elephantopus mollis* for potential phytoremediation practices. *Water, Air, Soil Pollution*, 225, 2015.
- [63] J. Silva, A. Fernandes, M. Silva, C. Santos, and A. Lobato. Tolerance mechanisms in *Cassia alata* exposed to cadmium toxicity, a potential use for phytoremediation. *Photosynthetica*, 55:495–504, 2017.
- [64] I. Regalado, A. Leiseca, Y. Cabrera, F. Franco, and C. Bulnes. Anatomical changes in the species *Cynodon nlemfuensis* vanderhyst in soils contaminated by heavy metals. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 23(4):37–42, 2014.



- [65] T. Miliani, F. Espinoza, J. Gil, A. Baldizán, and Y. Diaz. Utilización de un bosque deciduo por bovinos a pastoreo. *Zootecnia Tropical*, 26(3), 2008.
- [66] R. Chaverri. *El cultivo del tabaco*. Editorial Universidad Estatal a Distancia, Costa Rica, 1ed edition, 1995.

