

## **CAMBIOS EN LA MORFOLOGIA Y EN LA TASA DE CRECIMIENTO DE *PISTIA STRATIOTES* (ARACEAE) ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE PLOMO**

**MAROZZI, M.<sup>1</sup>; VILLALBA, A.<sup>1</sup>; POLLA, W.<sup>1</sup>;**

**HADAD, H.<sup>2</sup> & DEVERCELLI, M.<sup>3</sup>**

### **RESUMEN**

Se realizó una experiencia en invernadero para estudiar los efectos de la presencia de plomo en ambientes acuáticos sobre *Pistia stratiotes* L.

Las plantas se recolectaron por uniformidad en el Riacho Santa Fe (31° 38' S - 60° 40' O). La experiencia se realizó durante 24 días en el invierno de 2000, bajo fotoperíodo natural, aireación permanente, temperatura de  $20 \pm 2$  °C, conductividad de  $115 \pm 27$   $\mu$ mho/cm y pH entre 6,9 y 7,1. Se utilizaron acuarios con 100g de biomasa vegetal cada uno y 7L de agua del sitio de recolección. Los tratamientos fueron: testigos y contaminados mediante el agregado de 1 mg/L de plomo.

Periódicamente, se midieron parámetros morfométricos (volumen radicular y caulinar medio por planta y superficie foliar media de hojas grandes, medianas y chicas por planta), biomasa seca, clorofila y cobertura, utilizando tres acuarios réplica, tanto para los contaminados como para los testigos. Se efectuaron análisis de la varianza y se aplicó el Test de Duncan para diferenciar medias.

En el final de la experiencia, se registraron diferencias significativas entre acuarios contaminados y testigos para el volumen radicular y caulinar medio. Esto se explicaría por una mayor acumulación de plomo en las raíces, en comparación con otros órganos. No se registraron diferencias significativas entre acuarios contaminados y testigos para el peso seco, clorofila y cobertura.

Se registraron tasas de crecimiento relativo negativas para ambos tratamientos. Probablemente, esto fue debido a un factor limitante no considerado en el trabajo. Se propone la realización de otras experiencias que tengan en cuenta otras variables a fin de obtener diferentes resultados.

*Palabras clave:* *Pistia stratiotes*, plomo, volumen radicular.

### **SUMMARY**

---

1.- Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral. CAI+D '96. Proyecto N° 141. Ciudad Universitaria. Paraje El Pozo. (3000) Santa Fe.

2.- Becario del CONICET, Química Analítica, Facultad de Ingeniería Química, UNL.

3.- Becaria del CONICET, INALI (CONICET - UNL).

Manuscrito recibido el 11 de marzo de 2003 y aceptado para su publicación el 1° de diciembre de 2003.

## Changes on morphology and rate growth of *Pistia Stratiotes* (Araceae) Related to lead presence.

To study the effects of lead on *Pistia stratiotes* L. in aquatic environments, a greenhouse experiment was carried out. The plants were collected by similarity in the Santa Fe River (31° 38' S - 60° 40' W). The experiment lasted 24 days during winter of 2000. It was done under natural photoperiod and permanent airing. The water temperature was  $20 \pm 2$  °C, the conductivity was  $115 \pm 27$   $\mu$ mho/cm and the pH was ranged between 6,9 and 7,1. Containers with 100g of plants and 7L of river water were used. The treatments were: control and polluted containers with 1 mg Pb/L.

Periodically, morph-metric parameters (root and stem mean volumes and mean foliar area by plant of large, medium and small leaves), dry biomass, chlorophyll and cover were measured in polluted and control containers replicated three times. Variance analyses were carried out and Duncan's Test was applied for means differentiation.

At the end of the experiment, significant differences were registered between polluted and control containers for root and stem mean volumes. This fact could be explained by a higher lead accumulation in the roots in comparison with others organs. It not were registered significant differences between polluted and control containers for dry weight, chlorophyll and cover.

Negative growth rates for all the treatments were registered. Probably, it was due to a limitant factor not measured in this work. We propose other experiments that consider others variables to obtain different results.

*Key words:* *Pistia stratiotes*, lead, root volume.

## INTRODUCCIÓN

El plomo figura entre los cinco metales pesados considerados particularmente tóxicos. Está ampliamente distribuido en la naturaleza, aunque el riesgo máximo de contaminación surge de las emisiones en el ambiente asociadas al uso humano del metal y sus derivados (Duffus, 1983). El plomo, estacionado o móvil, se transporta y distribuye principalmente a través de la atmósfera y sus fuentes principales son las fundiciones y el refinado, las combustiones de petróleo con aditivos del mismo y, en mayor grado, la fundición de otros metales y el quemado de carbón y aceite. Las pinturas, vidrios y la fabricación de insecticidas son, asimismo, fuentes de este metal. Por otro lado, los lodos cloacales pueden contener niveles muy altos de plomo y su uso como fertilizante contamina los suelos, afectando a los microorganismos y retardando la degradación

heterótrofa de la materia orgánica (Duffus, 1983). Los ambientes acuáticos también sufren el impacto de este contaminante ya que reciben desechos antropogénicos a través de diversas vías tales como efluentes cloacales e industriales y aguas de lavado de zonas expuestas a contaminación. Se ha observado la acumulación de plomo proveniente de efluentes industriales, en plantas acuáticas y terrestres (IPCS, 1989).

En recientes investigaciones se demostró que distintas especies vegetales poseen diversas capacidades de acumulación de Pb (II), como por ejemplo *Salvinia rotundifolia* Willd. (Banerjee & Sarker, 1997) y de otros metales pesados (Haghiri, 1973; Ramachandran *et al.*, 1980; Sarkar & Jana, 1986; Jana, 1988; Delgado *et al.*, 1993; Schneider & Rubio, 1999).

La zona de absorción del elemento químico por la planta, influye en su distribu-

ción interna. Así como algunos metales se transportan fácilmente dentro de la planta (Boruvka *et al.*, 1997b), otros, como el caso del Pb, son poco móviles y su acumulación se produce mayormente en las raíces (Boruvka *et al.*, 1997a; Vesik & Allaway, 1997). Probablemente, esto se deba a la presencia de barreras fisiológicas que regulan el transporte del metal hacia las partes aéreas (Kabata-Pendias & Pendias, en Boruvka, 1997a).

Utilizando microscopía electrónica, Lytle *et al.* (1998) analizaron la acumulación y reducción del Cr (VI) a Cr (III) en tejidos radiculares y foliares de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. encontrando una gran acumulación de este metal en las raíces y formaciones cristalinas del mismo en las hojas.

En relación con *Pistia stratiotes* L. se han realizado estudios vinculados a la absorción y efectos tóxicos de distintas concentraciones de metales pesados tales como Cr, Cd y Cu registrándose los mismos en variables bioquímicas (actividades enzimáticas y contenido de ARN, proteínas, aminoácidos y azúcares) (Sen *et al.*, 1987; Satyakala & Kaiser, 1997).

Los efectos de los metales sobre la morfología de esta macrófita han sido poco estudiados, así como las posibles alteraciones estructurales que aquellos producen. Por ello, se consideran en este estudio los siguientes aspectos: capacidad de colonización y variabilidad de parámetros morfométricos en órganos vegetativos en *P. stratiotes* como respuesta a la acción del plomo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una experiencia en invernadero con una duración de 24 días durante el mes de agosto de 2000. El material vegetal y el agua empleados, se colectaron en la

margen derecha del Río Santa Fe (31° 38' S, 60° 40' O), Ruta Provincial 168, "Paraje El Pozo", ciudad de Santa Fe, Argentina. Los vegetales en buenas condiciones y en un estadio intermedio de desarrollo, se lavaron cuidadosamente y posteriormente se sometieron a un período de aclimatación de 3 días en invernadero. La experiencia se realizó bajo fotoperíodo natural, aireación permanente, temperatura media del agua de  $20 \pm 2$  °C, conductividad media de  $115 \pm 27$   $\mu\text{mho/cm}$  y pH entre 6,9 y 7,1. Se utilizaron acuarios plásticos de 12 litros de capacidad, conteniendo 100 g de peso fresco del vegetal y 7 litros de agua. Los tratamientos evaluados fueron: Testigos (T) y Contaminados (C) mediante el agregado de 1 de  $\mu\text{g/L}$  plomo. Según Bermejo Barrera (1982) la concentración media de plomo es de 8 en  $\mu\text{g/L}$  ríos y 2 en  $\mu\text{g/L}$  lagos, con valores mínimos y máximos entre 0,1 y 100  $\mu\text{g/L}$  y 0,1 y 0,5  $\mu\text{g/L}$  respectivamente. Así, la concentración utilizada en esta experiencia fue diez veces mayor que el valor máximo del intervalo normal de concentración registrado en ríos. Periódicamente, se agregó agua potable desclorada a fin de compensar las pérdidas por evapotranspiración. Las hojas y las raíces desprendidas de las plantas fueron removidas de los acuarios para evitar un posible aumento de nutrientes en agua como consecuencia de la necrosis de los tejidos.

Para las mediciones de todas las variables (parámetros morfométricos, cobertura, clorofila y peso seco) se utilizaron tres acuarios réplica, tanto para los contaminados con Pb, como para los testigos (Lee & Wang, 2001). Las variables se registraron con una periodicidad de 8 días. Los parámetros morfométricos (volumen radicular y caulinar medios por planta y superficie foliar media por planta) fueron calculados por fórmulas estereométricas (Marozzi *et al.*, 2000). Los valores iniciales de estos parámetros fueron

obtenidos midiendo la totalidad de las plantas colocadas en todos los acuarios al comienzo de la experiencia. Estos valores fueron empleados como referentes iniciales para su comparación con los valores obtenidos (tanto en acuarios testigos como contaminados) a lo largo de la experiencia.

Para medir la superficie foliar, las hojas se separaron en chicas (0 a < 2 cm de largo), medianas (2 a < 4 cm) y grandes ( $\geq$  4 cm). La cobertura se estimó considerando el porcentaje de superficie ocupada por las plantas en cada acuario.

La concentración de clorofila se midió inicialmente y a los 12 y 24 días con la técnica de Marker *et al.* (1980). Las mediciones se realizaron sobre el 100% del contenido de los acuarios sujetos a manipulación.

Con relación al peso seco, se consideró peso seco total y por órgano (inicial, 12 y 24 días) obtenido en estufa a 105° C hasta peso constante (Vollenweider, 1974). El peso seco inicial y por órgano fue estimado en base al secado de 100 g de plantas obtenidas del sitio de muestreo realizando tres réplicas. Este valor fue empleado como referente inicial para su comparación con los valores de peso seco (tanto de acuarios testigos como contaminados) a lo largo de la misma.

Además, se calculó la relación de peso foliar, que indica el cociente entre el peso seco de las hojas y el peso seco total. La tasa de crecimiento relativo ( $R = g \text{ peso seco día}^{-1}$ ), fue calculada según la ecuación de Blackman, modificada por Hunt (1978):

$$R = (\ln W - \ln W_0) / (t - t_0)$$

en la que W es el peso seco alcanzado al final del período,  $W_0$  es el peso seco inicial y  $(t - t_0)$  es el intervalo de tiempo entre el muestreo final e inicial, respectivamente.

Con el propósito de determinar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos dados a las variables medidas a

lo largo del tiempo, se aplicó el análisis de la varianza de uno y dos factores (ANOVA). El Test de rangos múltiples de Duncan se utilizó para diferenciar medias. La normalidad de los residuales se realizó gráficamente. Se utilizó el Test de Bartlett para corroborar la homocedasticidad de las varianzas (Walpole *et al.*, 1999). Un nivel de  $p < 0,05$  se utilizó en todas las comparaciones. Los análisis estadísticos se realizaron con el software Statgraphics Plus 3.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### VOLUMEN RADICULAR MEDIO POR PLANTA

El volumen de la raíz en acuarios contaminados tuvo un descenso sostenido y en proporciones similares en cada medición, alcanzando un 73,8% de retroceso al final de la experiencia, con respecto al valor inicial (Fig. 1A). En acuarios testigos, se observó un notable descenso a los 8 días (38,4%), permaneciendo más o menos estable hasta el final de la experiencia. La diferencia entre el volumen inicial y final correspondió a una diferencia recesiva del 37,3%. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los acuarios con agregado de Pb y los testigos en las observaciones realizadas los días 16 y 24 (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Dichas diferencias podrían explicarse por la tendencia especial que posee este metal de ser acumulado fundamentalmente en las raíces (Boruvka *et al.*, 1997a; Vesik & Allaway, 1997).

### VOLUMEN CAULINAR MEDIO POR PLANTA

El volumen caulinar en acuarios contaminados mostró un descenso máximo a los 16 días de experiencia (Fig. 1B). El porcentaje de descenso entre el valor inicial y final correspondió al 72,3%. El volumen en los

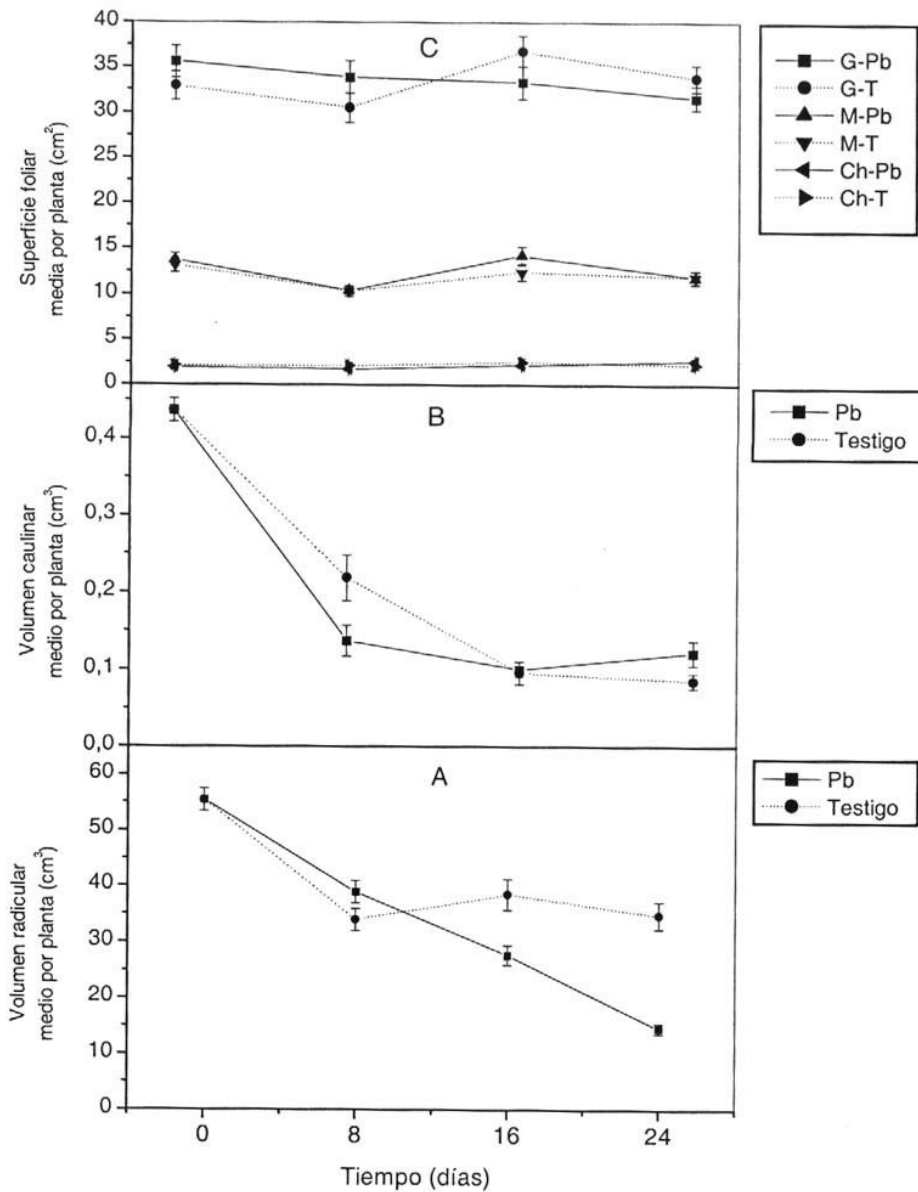


Fig. 1: Variación del volumen radicular (A) y caulinar (B) medio por planta y del área foliar media por planta de hojas grandes, medianas y chicas (C) de *P. stratiotes* en acuarios con y sin agregado de Pb. G-Pb= hojas grandes en acuarios contaminados; G-T= hojas grandes en acuarios testigos; M-Pb= hojas medianas en acuarios contaminados; M-T= hojas medianas en acuarios testigos; Ch-Pb= hojas chicas en acuarios contaminados; Ch-T= hojas chicas en acuarios testigos. Las barras verticales representan errores estándar.

acuarios testigos descendió un 50% hacia el octavo día de experiencia y un 56,4% a los 16 días. Al final de la experiencia, el valor registrado fue similar al obtenido a los 16 días. El descenso total fue de un 80 % con respecto al valor inicial. Se registraron diferencias significativas entre los acuarios contaminados con Pb y los testigos al final de la experiencia (ANOVA,  $p < 0,05$ ).

### **SUPERFICIE FOLIAR MEDIA POR PLANTA**

Los resultados finales obtenidos en acuarios contaminados para la superficie media de hojas grandes por planta (Fig. 1C), indicaron un leve y constante descenso con respecto al valor inicial (11,2%). En los acuarios testigos se registraron fluctuaciones a lo largo de la experiencia, mostrando entre el inicio y el final, un aumento del 2,7%.

Con respecto a la superficie media de hojas medianas por planta, en los acuarios contaminados se registró una reducción del 24,5% a los 8 días, un aumento del 37,2% a los 16 días y una disminución del 17,1 % en el final de la experiencia, siendo el descenso total de 14,1%. Los acuarios testigos mostraron similar respuesta (descenso del 21,1% a los 8 días, recuperación del 20,3% a los 16 días y descenso del 4,1% al final), correspondiendo el descenso total a un 9%.

En lo que respecta a la superficie media de hojas chicas por planta, tanto en acuarios contaminados como en los testigos, los resultados obtenidos indicaron un descenso hacia el octavo día (9,1% y 2,3% respectivamente) y un aumento a los 16 días (27,7% y 20,3%, respectivamente). Hacia el final de la experiencia se observó un aumento del 22,2% en acuarios contaminados y un descenso del 10,4% para acuarios testigos. El incremento entre los valores iniciales y finales para acuarios contaminados y testigos

fue 42% y 5,2% respectivamente. No fueron observadas diferencias significativas entre acuarios contaminados y testigos a lo largo de la experiencia.

Marozzi *et al.* (2000) encontraron que las variaciones en todos los parámetros morfométricos analizados anteriormente fueron similares en *P. stratiotes* sometida al Cadmio, lo cual significa que el Pb y el Cd influyen sobre el desarrollo de esta especie de la misma manera.

Al relacionar el volumen radicular y la superficie foliar media, se observó una disminución simultánea de estas variables durante la primera mitad de la experiencia. Si bien el plomo se acumula principalmente en las raíces afectando su desarrollo, una parte es transportada hacia las hojas. Además, debe tenerse en cuenta que las hojas de *P. stratiotes* entran en contacto con el medio contaminado a través de su cara abaxial, produciendo adsorción de plomo. Dichos mecanismos de incorporación de plomo podrían haber sido los causales de la disminución del área foliar media. Sin embargo, estos mecanismos tuvieron menor importancia en comparación con la absorción a través de las raíces. Resultados que dan cuenta de similar comportamiento fueron informados por Vesik & Allaway (1997) para *E. crassipes*.

### **PESO SECO**

Tanto en acuarios contaminados como en testigos se observó una disminución ligeramente superior al 50% del peso seco total hacia la fase intermedia de la experiencia (Cuadro 1), mostrando los primeros un ligero descenso (4,67%) hacia la etapa final, mientras que los segundos experimentaron un leve aumento (7,28%). En comparación con este resultado, el área foliar media por planta no presentó una disminución tan marcada. Esto podría deberse a que las condiciones de experimentación produjeron

una mayor disminución en el espesor foliar, probablemente en los tejidos del parénquima del mesófilo, lo cual pudo haber determinado una mayor disminución de la biomasa y una disminución de menor magnitud de la superficie foliar.

A partir del ANOVA realizado, se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los pesos secos de los distintos tiempos de medición y entre los pesos secos de los diferentes órganos, pero no se observaron diferencias al comparar los valores de los acuarios con agregado de Pb y testigos (Cuadro 1, Test de Duncan).

No fueron registradas diferencias significativas para la relación de peso foliar entre acuarios con agregado de Pb y testigos, ni entre los tiempos de medición. Esto demostró que la proporción de biomasa foliar seca fue similar entre los tratamientos a lo largo de la experiencia.

Las tasas de crecimiento relativo se mostraron negativas en ambos tratamientos (Cuadro 1). No se registraron diferencias significativas entre las tasas totales y de los distintos órganos, ni entre los acuarios contaminados y testigos. Debido a que las respuestas de las plantas contaminadas y testigos fueron semejantes, se sugiere que el motivo de este hecho podría surgir de un estudio de variables no consideradas en este trabajo, como por ejemplo la concentración de nutrientes en agua, condiciones de experimentación para el crecimiento de vegetales, senescencia natural según la estación del año (Lallana, 1989), etc., las cuales pudieron haber afectado el crecimiento de los vegetales. Sin embargo, las tasas de crecimiento relativo de plantas de acuarios con agregado de Pb fueron levemente inferiores a las registradas en los acuarios testigos. En experiencias previas (Marozzi *et al.*, 2000) se registraron resultados similares en el peso seco de *P. stratiotes* sometida a Cd. Por el

contrario, en un estudio de los efectos tóxicos del Cromo sobre esta misma especie, se han registrado tasas de crecimiento positivas (Sen *et al.*, 1987).

## CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA

Los valores de clorofila mostraron diferencias estadísticamente significativas a lo largo de la experiencia (ANOVA,  $p < 0,05$ ), observándose un aumento hacia los 12 días y un posterior descenso, con valores finales menores a los iniciales (Fig. 2). No se registraron diferencias significativas entre acuarios con agregado de Pb y testigos. Similares resultados fueron reportados para la especie estudiada al someterla a Cu y Cd (Satyakala & Kaiser, 1997). En otro trabajo, se estudió la respuesta fotosintética del alga marina *Halophila ovalis* a diferentes concentraciones de Pb, encontrando fuertes efectos tóxicos a concentraciones de 5 y 10 mg/L y menores efectos con una concentración de 1 mg/L (Ralph & Burchett, 1998).

La concentración de clorofila de los acuarios testigos fue levemente mayor que la de los acuarios con agregado de Pb. Dicha diferencia podría ser atribuida a la influencia del Pb en procesos metabólicos inherentes a la síntesis de clorofila y en la acción de enzimas específicas (Banerjee & Sarker, 1997).

## COBERTURA

En la cobertura no se registraron diferencias estadísticamente significativas entre acuarios contaminados y testigos, pero sí entre los valores obtenidos a través del tiempo (ANOVA,  $p < 0,05$ ), observándose un aumento significativo a los 8 y 16 días de experiencia para ambos, y una disminución posterior sólo para acuarios tratados con Pb (Fig. 3).

*Cuadro 1: Variación de peso seco total y de órganos, relación de peso foliar, y tasas de crecimiento relativo (R) de P. stratiotes, en acuarios con y sin agregado de Pb (Promedio  $\pm$  D. S.). Diferentes letras representan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).*

Peso seco (g)	Inicial	12 días		24 días	
		Pb	Testigo	Pb	Testigo
Total	20,5 $\pm$ 2,98 a	9,21 $\pm$ 2,10 b	9,06 $\pm$ 1,56 b	8,78 $\pm$ 1,14 b	9,72 $\pm$ 1,74 b
Hoja	14,8 $\pm$ 1,82 a	7,21 $\pm$ 1,13 c	6,76 $\pm$ 1,05 c	5,64 $\pm$ 0,752 c	6,84 $\pm$ 0,981 c
Tallo	1,88 $\pm$ 0,259 b	0,243 $\pm$ 0,036 d	0,511 $\pm$ 0,081 d	0,820 $\pm$ 0,119 d	0,368 $\pm$ 0,057 d
Raíz	3,77 $\pm$ 0,401 b	1,76 $\pm$ 0,221 d	1,79 $\pm$ 0,210 d	2,32 $\pm$ 0,308 d	2,52 $\pm$ 0,378 d
Relación de peso foliar	0,722 $\pm$ 0,091	0,783 $\pm$ 0,083	0,746 $\pm$ 0,077	0,642 $\pm$ 0,064	0,704 $\pm$ 0,073
R (g . día <sup>-1</sup> )		Pb		Testigo	
Total		-0,035 $\pm$ 0,004	-0,031 $\pm$ 0,003		
Hoja		-0,040 $\pm$ 0,005	-0,032 $\pm$ 0,004		
Tallo		-0,035 $\pm$ 0,004	-0,068 $\pm$ 0,007		
Raíz		-0,020 $\pm$ 0,002	-0,017 $\pm$ 0,002		



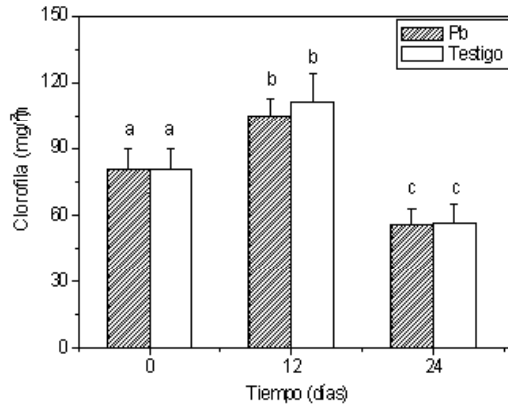


Fig. 2: Concentraciones de clorofila de *P. stratiotes* en acuarios con y sin agregado de Pb. Las barras verticales representan errores estándar. Diferentes letras representan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

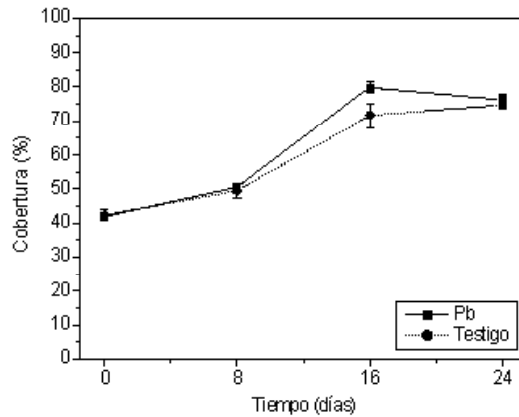


Fig. 3: Variación de la cobertura de *P. stratiotes* en acuarios con y sin agregado de Pb. Las barras verticales representan errores estándar.

## CONCLUSIONES

Se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los acuarios contaminados y testigos para el volumen radicular y caulinar medio por planta. Este resultado podría explicarse debido a que la raíz es el órgano principal de absorción y acumulación de este metal pesado, y por ende, el que más se expone a sus efectos tóxicos. En cambio, no se registraron diferencias esta-

dísticamente significativas entre los acuarios contaminados y testigos para el peso seco, concentración de clorofila y cobertura. Asimismo, se observaron tasas de crecimiento negativas para ambos acuarios.

Es posible que algún factor no considerado en este trabajo haya actuado como limitante, tornándose en el responsable del crecimiento negativo comprobado tanto en acuarios contaminados como testigos. Esto podría indagarse realizando otras instancias

de experimentación a las que se agreguen nuevas variables de medición que puedan arrojar nuevos resultados complementarios.

Para estudios posteriores, se propone realizar experiencias a distintas concentraciones de Pb a fin de poner a prueba los niveles de tolerancia de la especie y medir los efectos del metal pesado sobre diversas variables.

## BIBLIOGRAFÍA

- BANERJEE, G. & S. SARKER.** 1997. The role of *Salvinia rotundifolia* in scavenging aquatic Pb (II) pollution: a case study. *Biop. Eng.* 17: 295-300.
- BERMEJO BARRERA, A.** 1982. El plomo, presencia y efectos. Métodos de análisis. Universidad de Santiago de Compostela. España. Monografía N° 64. 165 p.
- BORUVKA, L.; J. KOZÁRK & S. KRIS-TOUFKOVÁ.** 1997a. Distribution of Cadmium, Lead and Zinc in plants grown on heavily polluted soils. *Rostlinná Vyroba.* 43 (6): 249-256.
- BORUVKA, L.; J. KOZÁRK & S. KRIS-TOUFKOVÁ.** 1997b. Heavy metal accumulation in plants grown in heavily polluted soils. *Folia Microbiol.* 42 (5): 524-526.
- DELGADO, M.; M. BIGERIEGO & E. GUARDIOLA.** 1993. Uptake of Zn, Cr and Cd by water hyacinths. *Wat. Res.* 27 (2): 269-272.
- DUFFUS, J. H.** 1983. Metales Tóxicos, Cap. 6. En: Toxicología Ambiental. Depto. de Cervecería y Ciencias Biológicas. Universidad de Heriot-Watt. Edimburgo. Ed Omega. pp. 83- 94.
- HAGHIRI, F.** 1973. Cadmium uptake by plants. *J. Environ. Quality.* 2 (1): 93-96.
- HUNT, R.** 1978. Plant growth analysis. *Studies in biology* N° 96. Edward Arnold Ltd., (Lond.). pp. 12-16.
- IPCS.** International Programme of Chemical Safety. 1989. Environmental Health Criteria 85. Lead. Environmental Aspects. Geneva.
- JANA, S.** 1988. Accumulation of Hg and Cr by three aquatic species and subsequent changes in several physiological and biochemical plant parameters. *Water, Air and Soil Pollution.* 38, 105-109.
- LALLANA, V. H.** 1989. Aspectos reproductivos del repollito de agua (*Pistia stratiotes* L.) en ambientes lenfíticos del río Paraná Medio. *Iheringia. Sér. Bot., Porto Alegre.* 39: 37-54.
- LEE, W. Y & W. X. WANG.** 2001. Metal accumulation in the green macroalga *Ulva fasciata*: effects of nitrate, ammonium and phosphate. *The Science of the Total Environment.* 278: 11-22.
- LYTLE, C. M.; F. W. LYTLE; N. YANG; J. GIAN; D. BANSEN; A. ZAYED & N. TERRY.** 1998. Reduction of Cr (VI) to Cr (III) by wetland plants: Potential for in situ heavy metal detoxification. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3087-3093.
- MARKER, F.; E. A. NUSCH; H. RAI & B. RIEMANN.** 1980. The measurement of photosynthetic pigments in freshwater. *Arch. Hydrobiol.* 14: 91-106.
- MAROZZI, M. C.; M. DEVERCELLI; W. POLLA & A. VILLALBA.** 2000. Respuesta de *Pistia stratiotes* L. (Araceae) a la acción del cadmio. *Rev. FABICIB.* 4: 149-155.
- RALPH, P. J. & M. D. BURCHETT.** 1998. Photosynthetic response of *Halophila ovalis* to heavy metal stress. *Environmental Pollution.* 103: 91-101.
- RAMACHANDRAN, V.; T. J. D'SOUZA & K. B. MISTRY.** 1980. Uptake and transport of chromium in plants. *J. Nuclear Agric. Biol.* 9, 126-128.
- SARKAR, A. & S. JANA.** 1986. Heavy metal pollutant tolerance of *Azolla pinnata*. *Water, Air and Soil Pollution.* 27, 15-18.
- SATYAKALA, G. & J. KAISER.** 1997. Studies on the effect of heavy metal pollution on

- Pistia stratiotes* L. (water lettuce). Indian J. Environ. HLTH. 39 (1): 1-7.
- SCHNEIDER, I. A. H. & J. RUBIO.** 1999. Sorption of heavy metal ions by the non living biomass of freshwater macrophytes. Environ. Sci. Technol. 33, 2213-2217.
- SEN, A. K.; N. G. MONDAL & S. MANDAL.** 1987. Studies of uptake and toxic effects of Cr(VI) on *Pistia stratiotes*. Wat. Sci. Tech. 19, 119-127.
- VESK, P. A. & W. G. ALLAWAY.** 1997. Spatial variation of cooper and lead concentrations of water hyacinth plants in a wetland receiving urban run – off. Aquatic Botany. 59, 33-44.
- VOLLENWEIDER, R. A.** 1974. A manual on Methods for Measuring. Primary Production in Aquatic Environments. IBP Handbook N° 12. International Biological Programme by Blackwell Scientific Publications, Oxford London Edinburgh Melbourne. Second Edition.
- WALPOLE, R.; R. MYERS & S. MYERS.** 1999. Probabilidad y estadística para ingenieros. Sexta ed. Prentice Hall Hispanoamericana. México.