



*Tendencias en el tratamiento
Integral de Aguas Residuales*

Congreso Internacional Ambiental Manizales

*“Tendencias en el tratamiento integral de
aguas residuales”*

Manizales, septiembre 18 - 21 de 2017



Instituto de Estudios Ambientales IDEA
Sede Manizales



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA



Universidad[®]
Católica
de Manizales





Efectos del agua residual producto del lavado de arenas provenientes del proceso de cianuración del oro sobre tres especies de plantas acuáticas

Yelicza Marín Giraldo
Marco Tulio Jaramillo Salazar
Diana Marcela Ocampo Serna



Grupo de investigación en Estudios Ambientales en Aguas y Suelos
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Caldas



Contenido

1. Antecedentes
 - Antecedentes de estudio
 - Antecedentes del grupo de investigación
2. Planteamiento del problema
3. Objetivos
4. Materiales y Métodos
5. Resultados
6. Conclusiones
7. Recomendaciones
8. Referencias bibliográficas

1. Antecedentes de estudio



Eichhornia crassipes (mart.) solms

- Ebel, et al. (2006) Fitorremediación de NaCN
- Jaramillo y Flores (2012). Fitorremediación de sales de mercurio de aguas residuales producto de la actividad minera
- Prasad y Maiti (2016). Absorción de metales Cu, Mn, Pb, Cd



Pistia stratiotes L.

- Odjegba y Fasidi. (2004). Tolerancia a metales pesados como Ag, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb y Zn
- Das et al. (2014). Fitorremediación de Cadmio (Cd)



Salvinia auriculata aubl.

Flórez y Cotes. (2006) *S. natans*. Plomo (Pb), Zinc (Zn), Cobre (Cu), Cadmio (Cd) y Mercurio (Hg).

Sánchez et al. (2008). *S. minima*. Plomo (Pb).

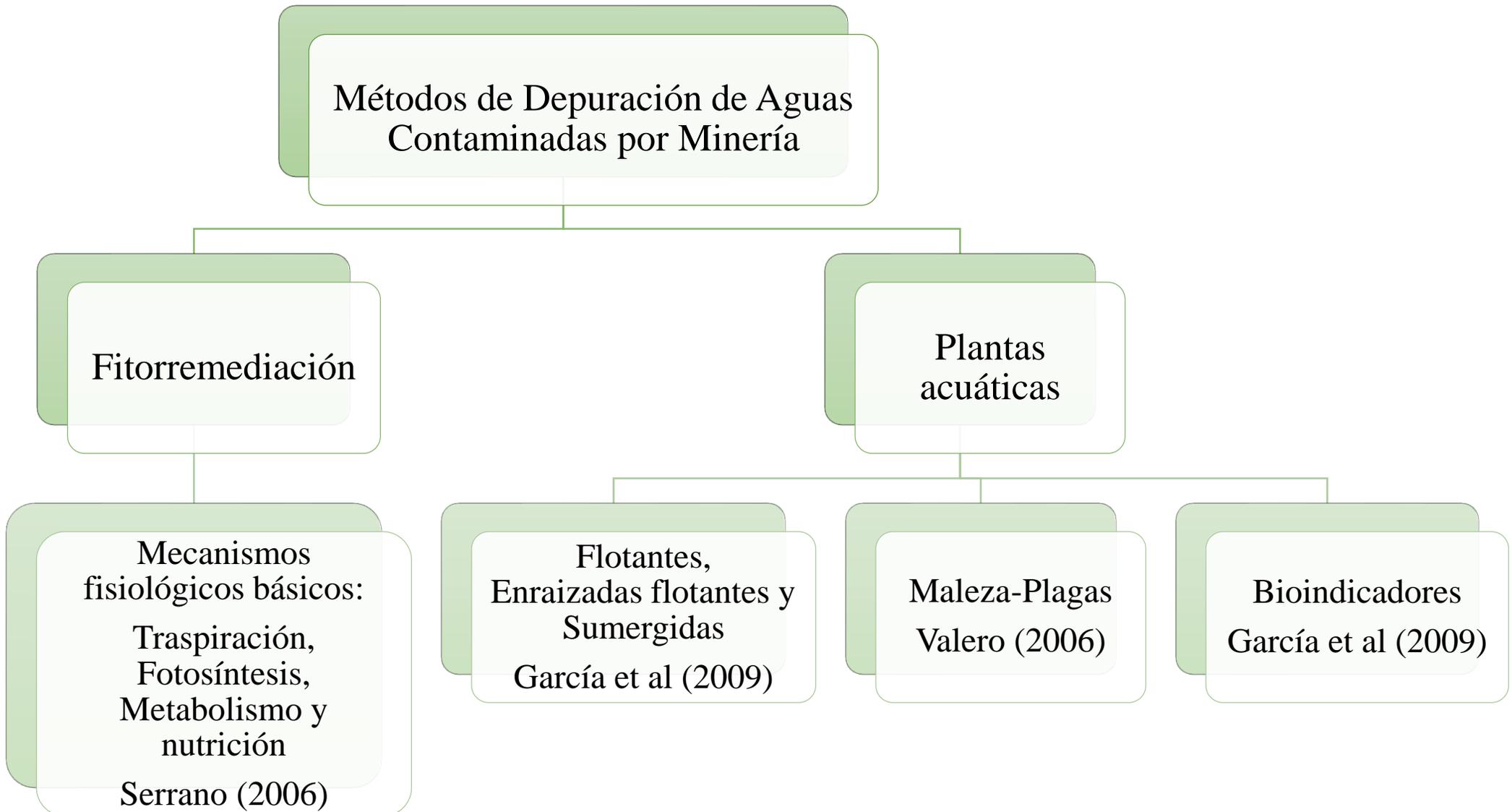
Prado et al. (2010). *S. minima*. cromo (Cr).

Ebel, Evangelou, Shaeffer. 2006. Cyanide phytoremediation by water hyacinths (*Eichhornia crassipes*).

Jaramillo y Flores. 2012. Fitorremediación mediante el uso de dos especies vegetales Lemna minor (Lenteja de agua), y Eichhornia crassipes (Jacinto de agua) en aguas residuales producto de la actividad minera.

Prasad y Maiti. 2016. Comparative study of metal uptake by *Eichhornia crassipes* growing in ponds from mining and nonmining areas-a field study.

1. Antecedentes de estudio



Serrano. M. (2006). Fitorremediación: una alternativa para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos.

García et al. (2009). Habitantes del agua. Macrófitos.

Valero, ML. (2006) Aplicación Tecnológica de las Macrófitas a la Depuración de Aguas Residuales con la Ayuda de Microorganismos.

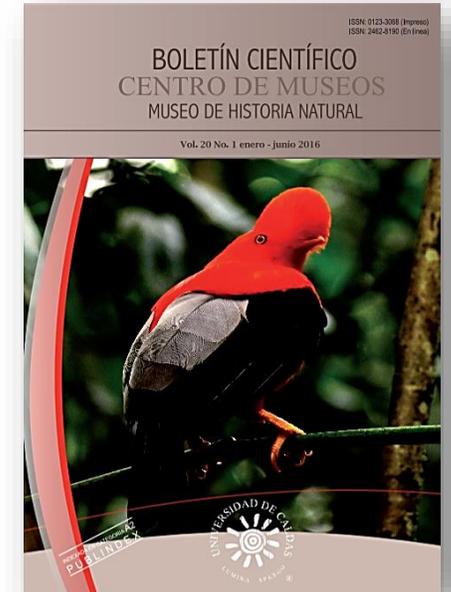
1. Antecedentes del grupo de investigación

bol.cient.mus.hist.nat. 20 (1), enero-junio, 2016. 63-77. ISSN: 0123-3068 (Impreso) ISSN: 2462-8190 (En línea)

BOLETÍN CIENTÍFICO
CENTRO DE MUSEOS
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

MANEJO DE MACRÓFITAS ACUÁTICAS EN LA ACUMULACIÓN Y TRANSFORMACIÓN DE CIANURO PRODUCTO DEL BENEFICIO DEL ORO EN LA MINA LA COQUETA*

*Marco Tulio Jaramillo-Salazar¹; Diana Patricia Buitrago-Escobar²;
Sonia Marcela Henao-Vasco² & John Henry Galvis-García¹***



Disminución de contaminación por cianuro
y la toxicidad de las aguas

Pruebas cualitativas en plantas

Remoción de cianuro del agua
Disminución de la toxicidad

Las macrófitas producen al final del tratamiento
otro tipo de metabolitos secundarios



2. Planteamiento del problema

¿Cuáles son los efectos del agua residual producto del lavado de arenas provenientes del proceso de cianuración del oro sobre tres especies de plantas acuáticas?

3. Objetivos

Objetivo General

Analizar los efectos del agua residual producto del lavado de arenas provenientes del proceso de cianuración del oro sobre tres plantas acuáticas: *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. y *Salvinia auriculata* Aubl.

3. Objetivos

Objetivos específicos

- Caracterizar el agua residual producto del lavado de arenas tratadas con cianuro provenientes del municipio de Marmato-Caldas.
- Identificar la composición química por GC-MS de los extractos metanólicos de las hojas de *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. y *Salvinia auriculata* Aubl., antes y después del tratamiento.
- Analizar los cambios fotosintéticos de las especies *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. y *Salvinia auriculata* Aubl. antes y después del tratamiento.
- Determinar la concentración letal aguda de los extractos acuosos de las hojas de las especies *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. y *Salvinia auriculata* Aubl. frente a *Daphnia pulex* y *Poecilia reticulata*, antes y después del tratamiento.

4. Materiales y Métodos

Material vegetal



Se colectó en el Jardín Botánico de la Universidad de Caldas

Ubicado en Manizales, Caldas

Altitud 2.160 msnm

4. Materiales y Métodos

Eichhornia crassipes (Mart.) Solms

Familia: Pontederiaceae

Nombres comunes: jacinto de agua, lirio de agua, buchón de agua

Originaria de Brasil

Características:

- Agua dulce, flotación libre
- Grandes superficies de agua que cubren
- Variedad de hábitats en el mundo en los que logran establecerse
- Compiten con éxito con otras especies



4. Materiales y Métodos

Pistia stratiotes L.

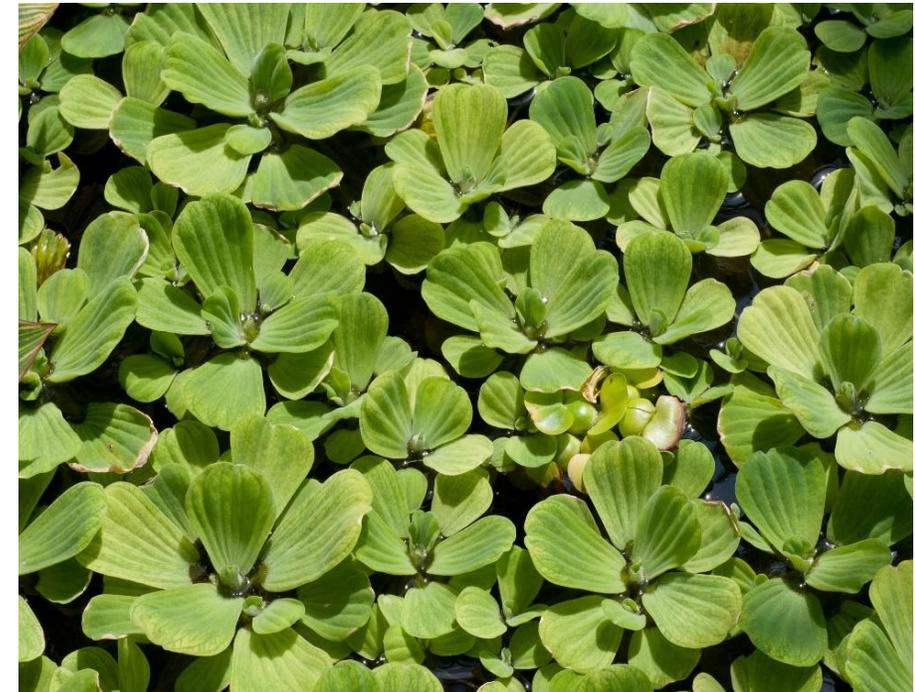
Familia: Araceae

Nombres comunes: lechuga de agua, repollo de agua

Originaria de Asia, África y América ecuatorial

Características:

- Agua dulce, flotación libre
- Descrita como una “mala hierba”
- Fitorremediación en zonas tropicales



Osmond R, Jhonson S. Water lettuce. Primefacts – NSW DPI. 2006

Thripathi P, Kumar R, Sharma A, Mishra A, Gupta R. *Pistia stratiotes* (Jalkumbhi). *Plant Review*. 2010

Azim M, Bahadar K, Gul B, Wahid F, Khan H, Hashim S. *Pistia stratiotes* l. (araceae): phytochemistry, use in medicines, phytoremediation, biogas and management options. *Pakistan Journal of Botany*. 2014

4. Materiales y Métodos

Salvinia auriculata Aubl.

Familia: Salviniaceae

Nombres comunes: acordeón de agua, helecho mariposa, lenteja de agua

Originaria de América del sur

Características:

- Agua dulce, flotación libre
- Muy pequeña, carece de verdaderas raíces
- Rápida reproducción zonas extensas en un corto período de tiempo



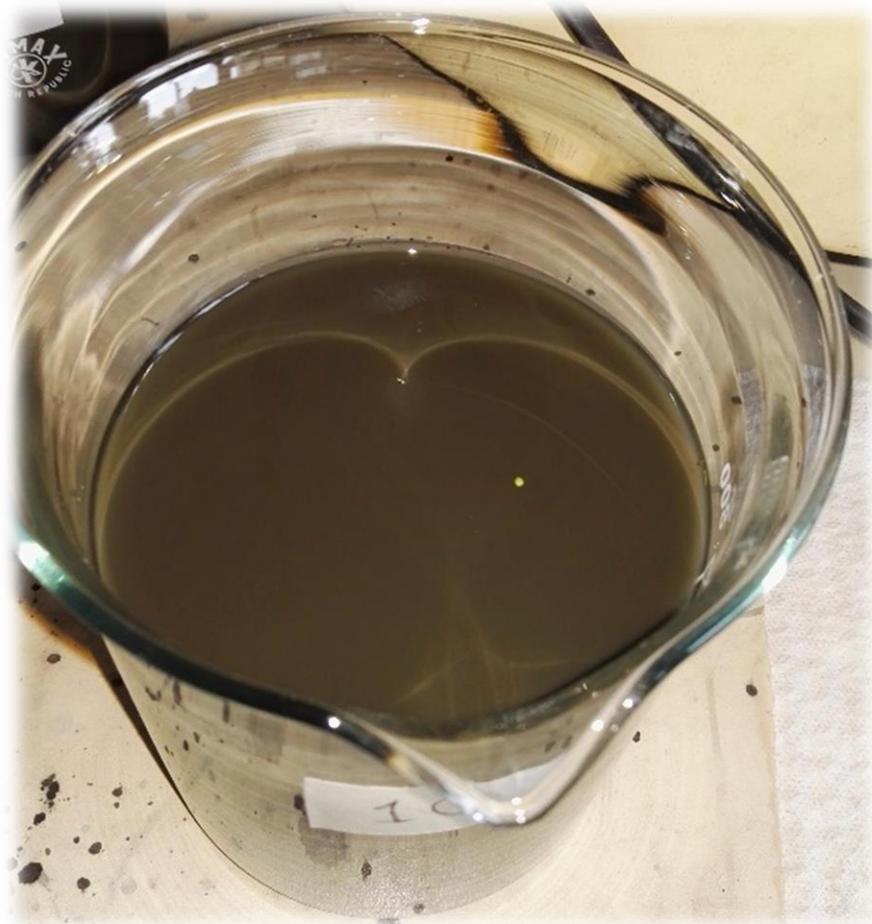
Ferreira, et al. (2016). *Salvinia auriculata*: Aquatic bioindicator studied by instrumental neutron activation analysis (INAA).

Jalajakumari et al. (2011). Phytochemical studies on *Azolla pinnata* R. Br., *Marsilea minuta* L. and *Salvinia molesta* Mitch. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.

Flórez y Cotes. (2006) Bioabsorción de metales pesados por *Salvinia natans* de los lixiviados del relleno sanitario Combeima Ibagué. 2006

4. Materiales y Métodos

Agua residual



El agua residual se obtuvo del municipio de Marmato

Occidente de Caldas

Altura de 1.310 m.s.n.m

A una distancia de 90,4 km de Manizales.



4. Materiales y Métodos

Tratamiento

<i>E.</i> <i>crassipes</i>	<i>P.</i> <i>stratiotes</i>	<i>S.</i> <i>auriculata</i>	Blanco
			
			
			

Laboratorio de estudios ambientales

Período de aclimatación

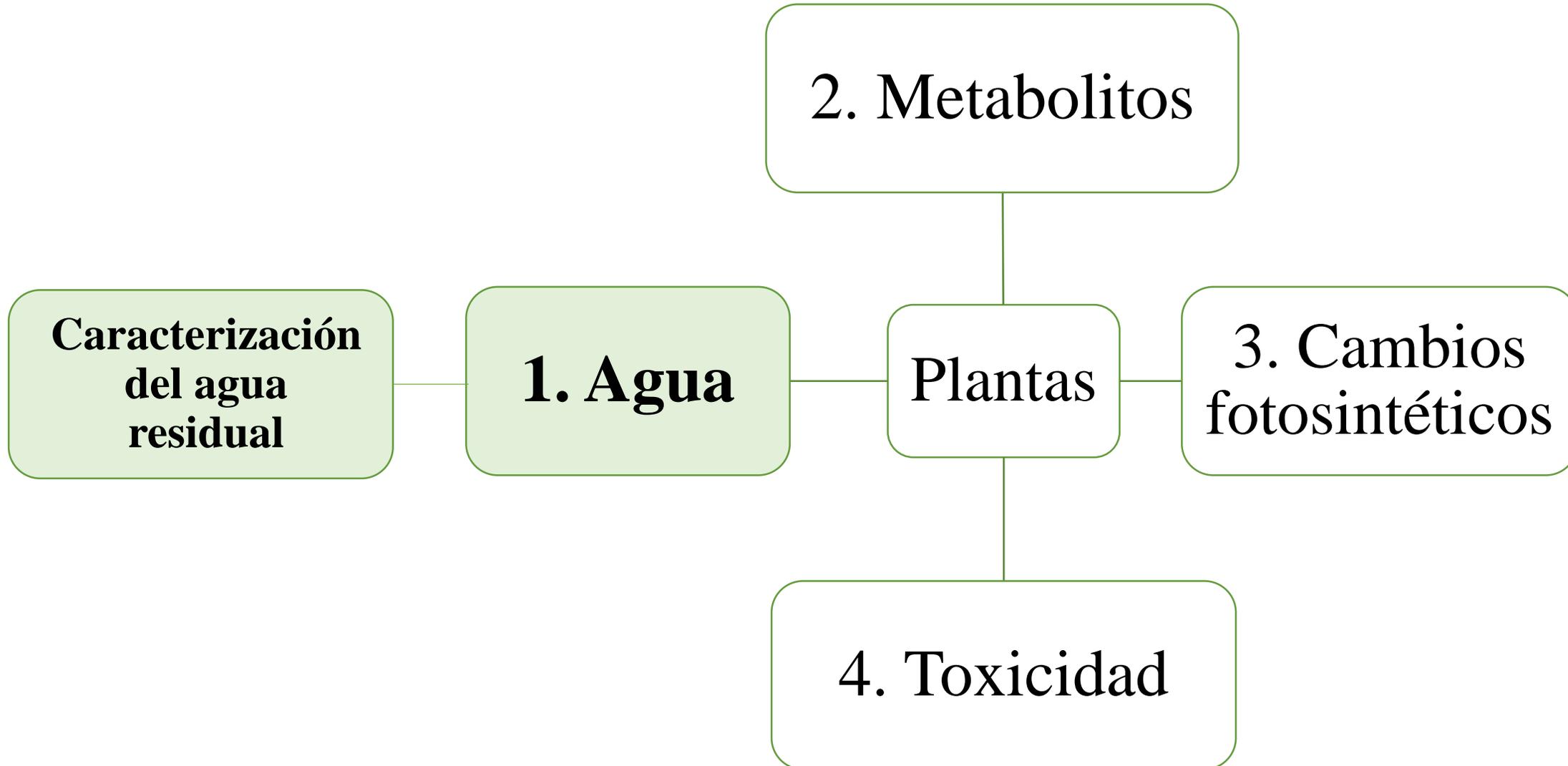
6 días de tratamiento

Sin renovación de plantas

Lecturas a las 0, 72 y 144 horas



4. Materiales y Métodos

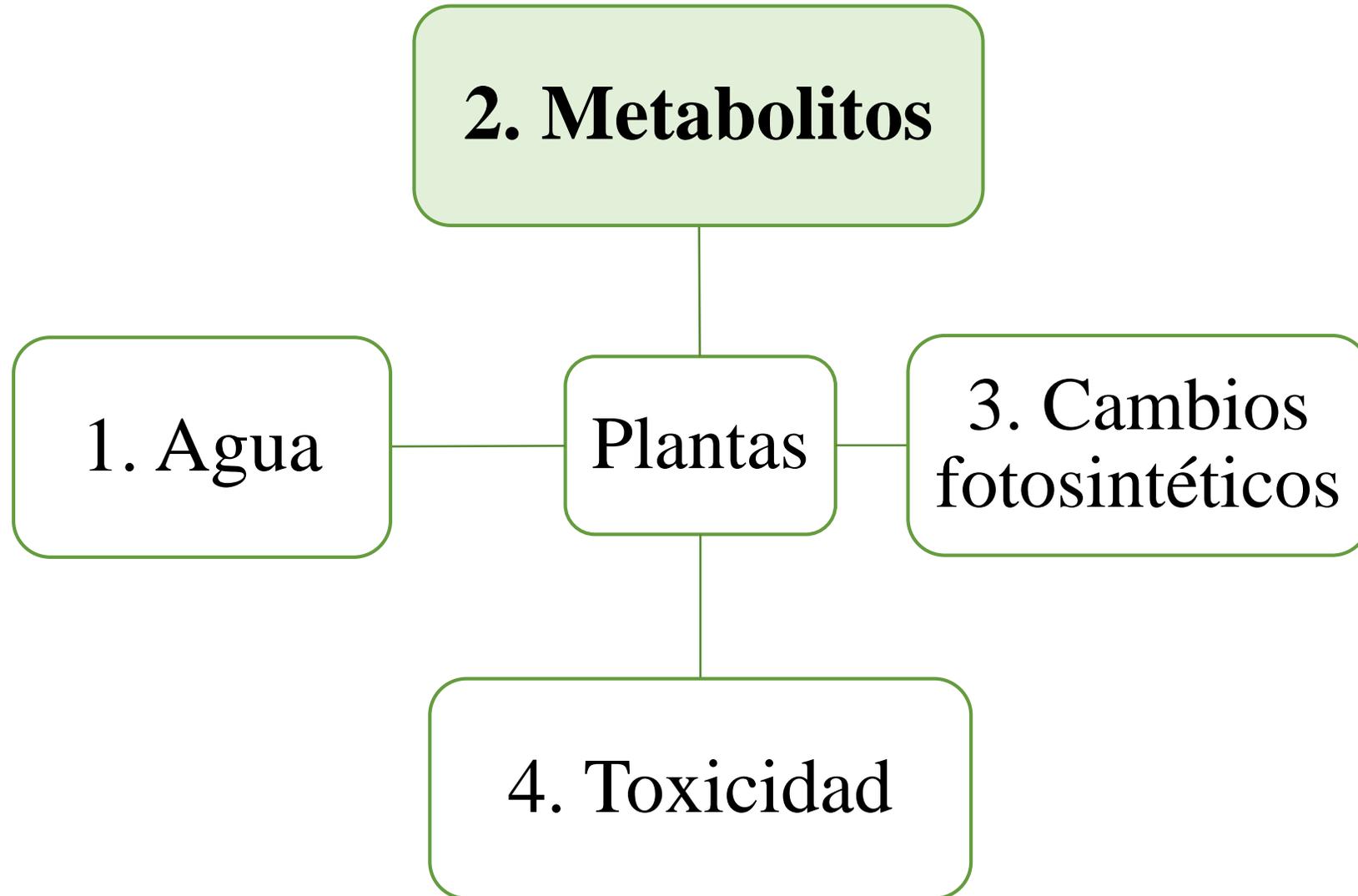


1. Métodos caracterización del agua residual

Componente	Método	Kit
Arsénico (As)	QUANTOFIX® Arsénico 10 REF 913 34	Tiras de ensayo para determinaciones semi-cuantitativas
Cianuro (CN ⁻)	Test 1-30 01.15 Nanocolor®	Determinación fotométrica con ácido barbitúrico/piridina
Cobre (Cu)	Test 1-53 07.16, Nanocolor®	Determinación fotométrica con cuprizona [ácido oxálico bis (ciclohexilidenedrazida)]
Hierro (Fe)	Test 1-36 11.14, Nanocolor®	Determinación fotométrica con 1,10-fenantrolina
Plomo (Pb)	Test 1-10 06.08, Nanocolor®	Determinación fotométrica con ditizona
Sólidos suspendidos totales (SST)	Método ESTANDAR, sólidos totales secados a 103 – 105 °C	2540-B APHA-AWWA-WPCF
Sulfuro	Test 1-88 03.14 Nanocolor®	Determinación fotométrica como azul de metileno
Zinc (Zn)	Test 1-95 03.14, Nanocolor®	Determinación fotométrica con zincon

En todos los casos se utilizó un espectrofotómetro marca Nanocolor uv/vis, S/N: STR-6-8-52355

4. Materiales y Métodos



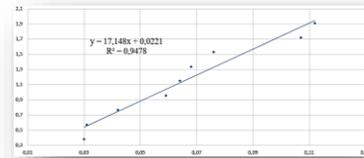
2. Metabolitos: Determinación de cianuro en plantas



Preparación de disoluciones



Preparación de tiras reactivas



Curva de calibración para HCN



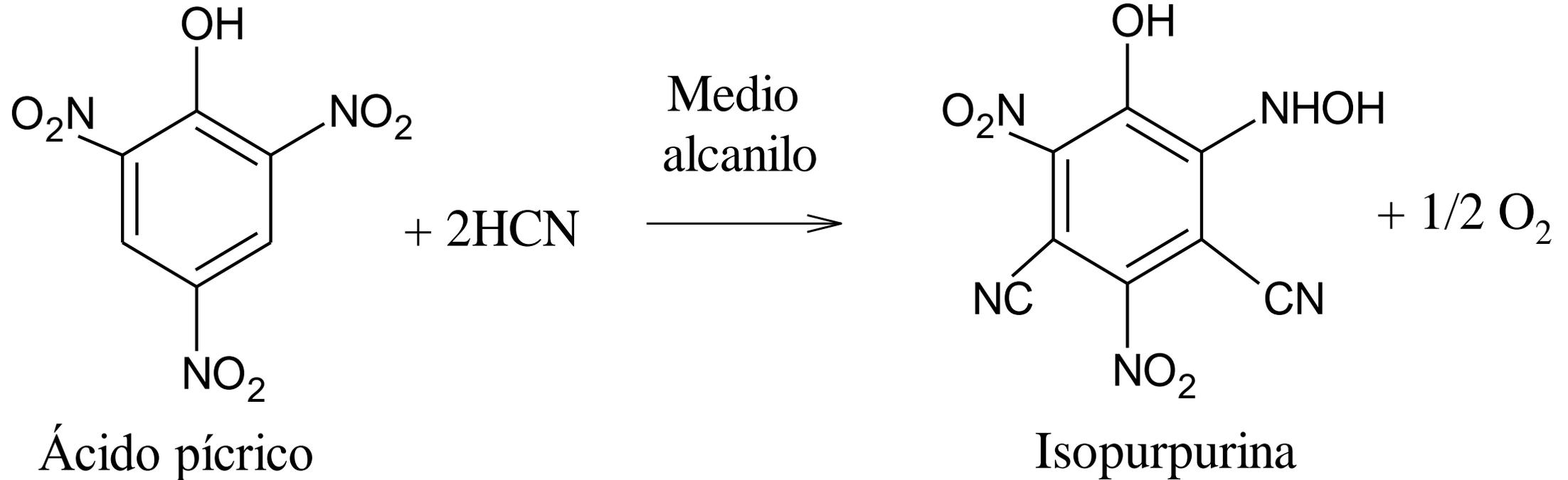
Determinación cualitativa



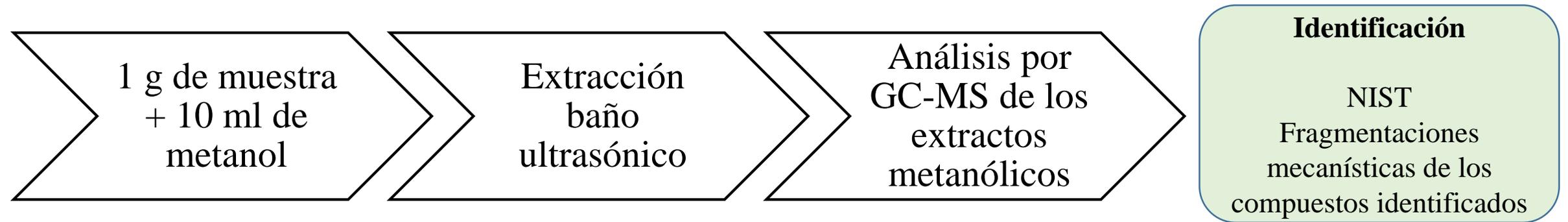
Determinación cuantitativa

2. Metabolitos. Determinación de cianuro en plantas

Reacción de Guignard

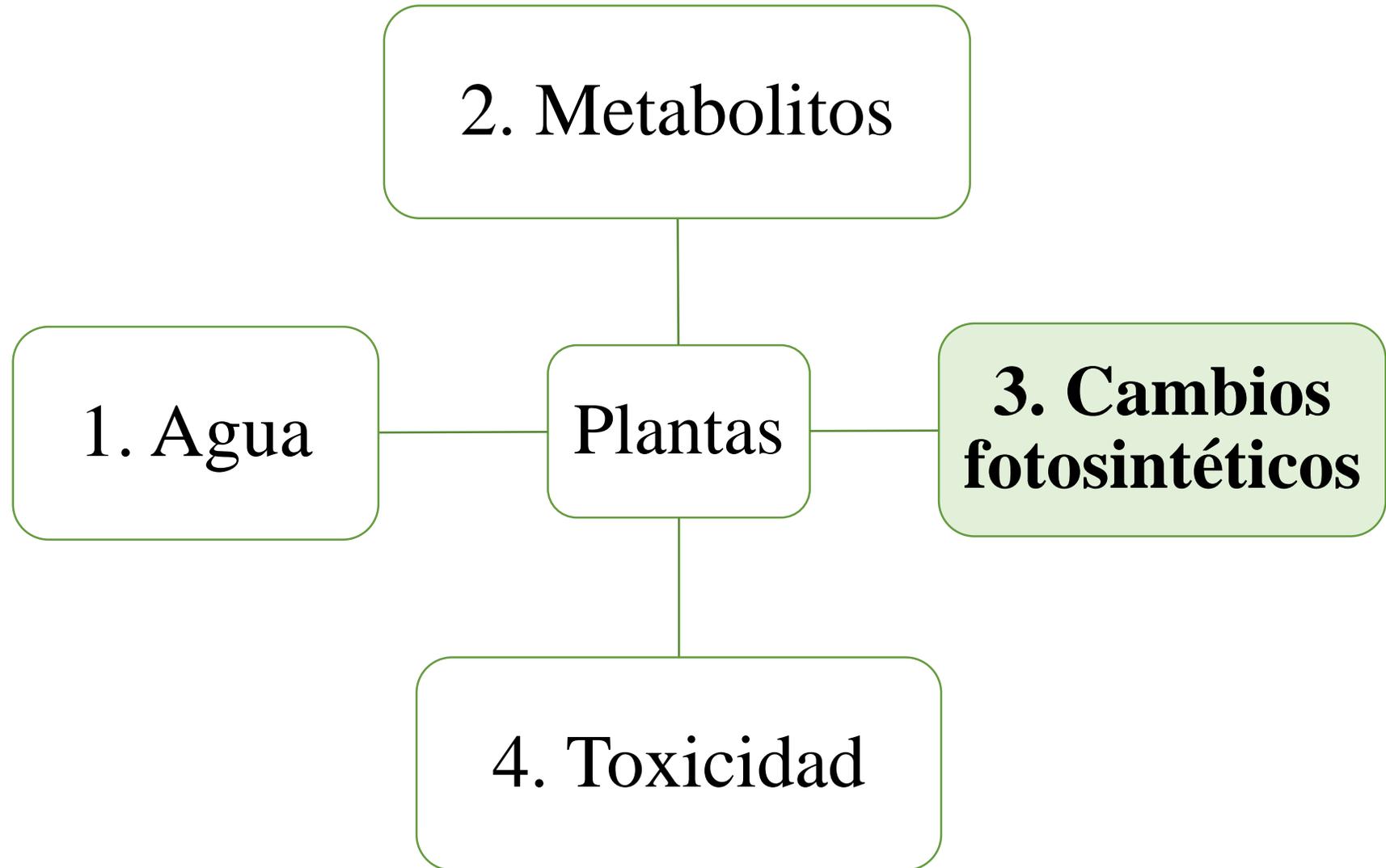


2. Metabolitos. Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) de los extractos metanólicos de las hojas



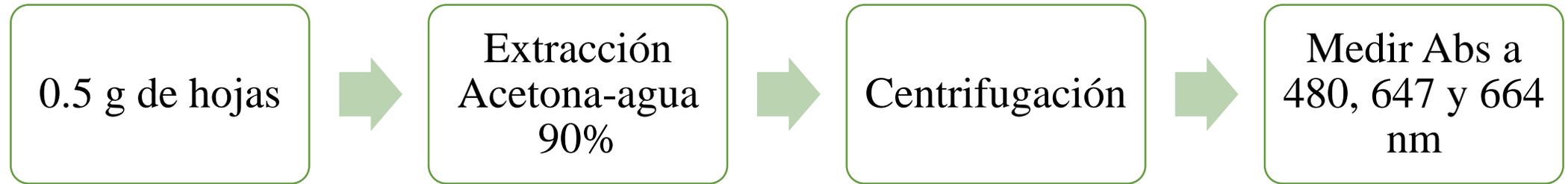
Condiciones cromatográficas	
Flujo	1 mL/min
Temperatura inyector	300 °C
Temperatura de la fuente de iones	300 °C
T de la interfase	310 °C
Rampa de temperatura	Inicia en 100°C, se mantiene por 2 minutos, incrementándose 10 °C/min hasta 300°C por 10 minutos
Tiempo total de lectura	33 minutos
Columna	DB-1 de 30m. 0,25mm. 0,25um
Modo de inyección	splitless
Modo <i>m/z</i>	scan desde 35 a 350
Gas de arrastre	Helio grado 5,0

4. Materiales y Métodos



3. Cambios Fotosintéticos

Metodología para la extracción de pigmentos fotosintéticos

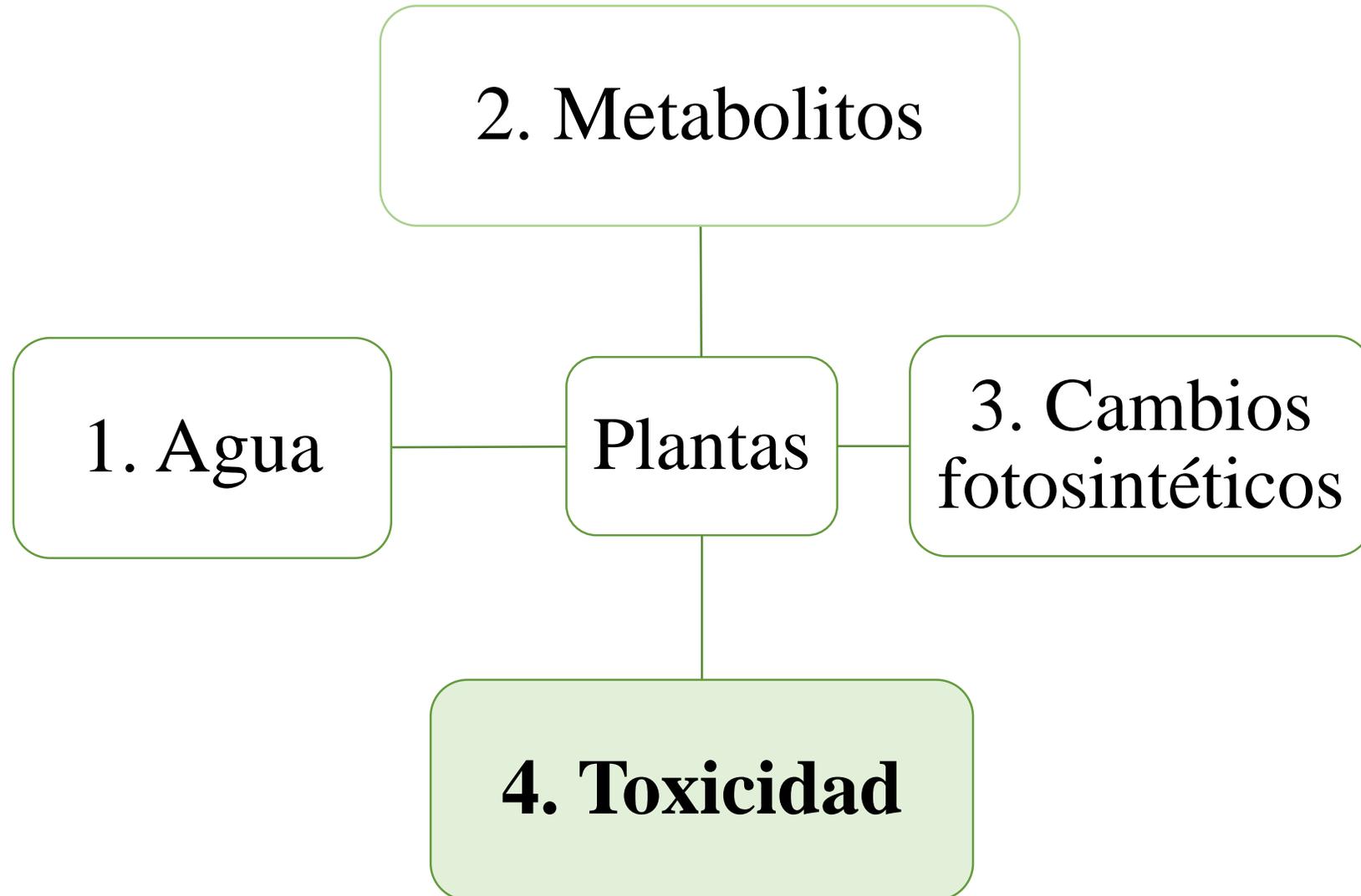


$$Ca (\mu\text{g/mL}) = 11,93 \times \text{D.O. (664)} - 1,93 \times \text{D.O. (647)}$$

$$Cb (\mu\text{g/mL}) = 20,36 \times \text{D.O. (647)} - 5,5 \times \text{D.O. (664)}$$

$$\text{Carotenoides totales } (\mu\text{g/mL}) = 4 \times \text{D.O (480)}$$

4. Materiales y Métodos



4. Ensayos de toxicidad



Ensayos de toxicidad



Daphnia pulex

Neonatos < 24 horas

Aguda: 96 horas

Inmovilización/mortalidad

Poecilia reticulata

Recién avivados < 24 horas

25 horas

% A.I. Comportamiento

4. Ensayos de toxicidad: Peces de la Especie *Poecilia reticulata*

Valores para la actividad ictiotóxica

Tiempo (Horas)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
1	20	10	6,7	5	4	3,3	2,8	2,5	2,2	2	1,8	1,7	1,5	1,4	1,3	1,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
2	40,0	20	13,3	10,0	8,0	6,7	5,7	5,0	4,4	4,0	3,7	3,3	3,1	2,8	2,7	2,5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
3	60	30	20	15	12	10	8,8	7,5	6,7	6	5,4	5	4,6	4,3	4	3,7	4	3	3	3	3	3	3	3	2	
4	80,0	40,0	26,7	20,0	16	13,3	11,4	10,0	8,9	8,0	7,3	6,7	6,1	5,7	5,3	5	5	4	4	4	4	4	4	4	3	3
5	100	50,0	30,3	25,0	20,0	16,7	14,3	12,5	11,1	10,0	9,0	8,3	7,7	7,1	6,7	6,2	6	6	5	5	5	5	5	4	4	4

Test de observación del comportamiento animal de Finn Sandberg-Irwin

Comportamiento (percepción, estereotipo, pasividad)

Actividad motora

Reflejos o sistema nervioso autónomo

5. Resultados

**Caracterización
del agua
residual**

1. Agua

2. Metabolitos

Plantas

**3. Cambios
fotosintéticos**

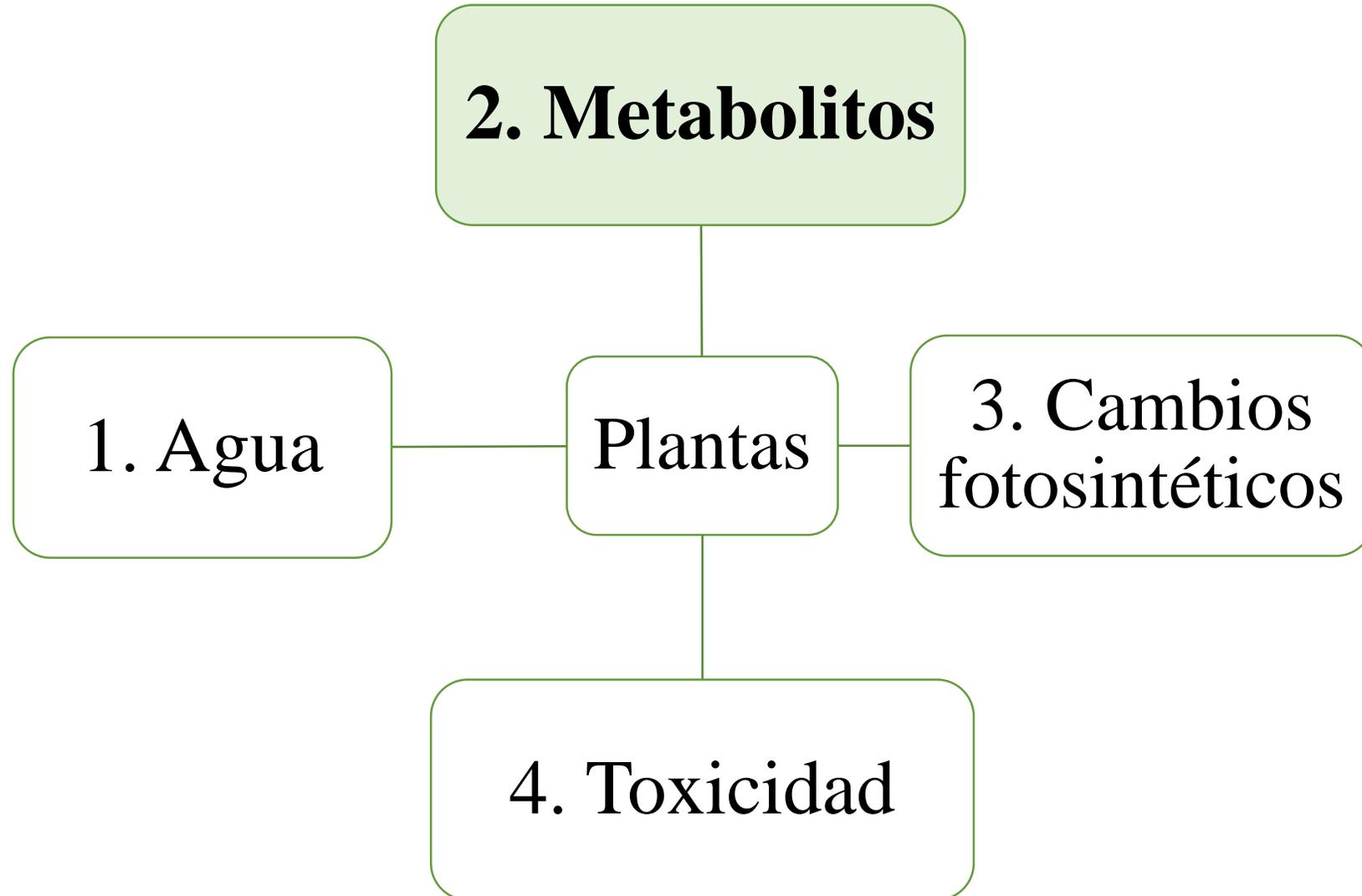
4. Toxicidad

1. Caracterización del Agua Residual

Parámetro	Concentración mg/L	
	Experimental	Ministerio de Medio ambiente y desarrollo sostenible*
Arsénico (As)	0,90	0,10
Cobre (Cu)	11,96	1,00
Hierro (Fe)	56,83	2,00
Plomo (Pb)	0,60	0,20
Zinc (Zn)	11,96	3,00
Sulfuro	2,20	1,00
Cianuro (CN ⁻)	175,00	1,00
SST	8400,00	0,50

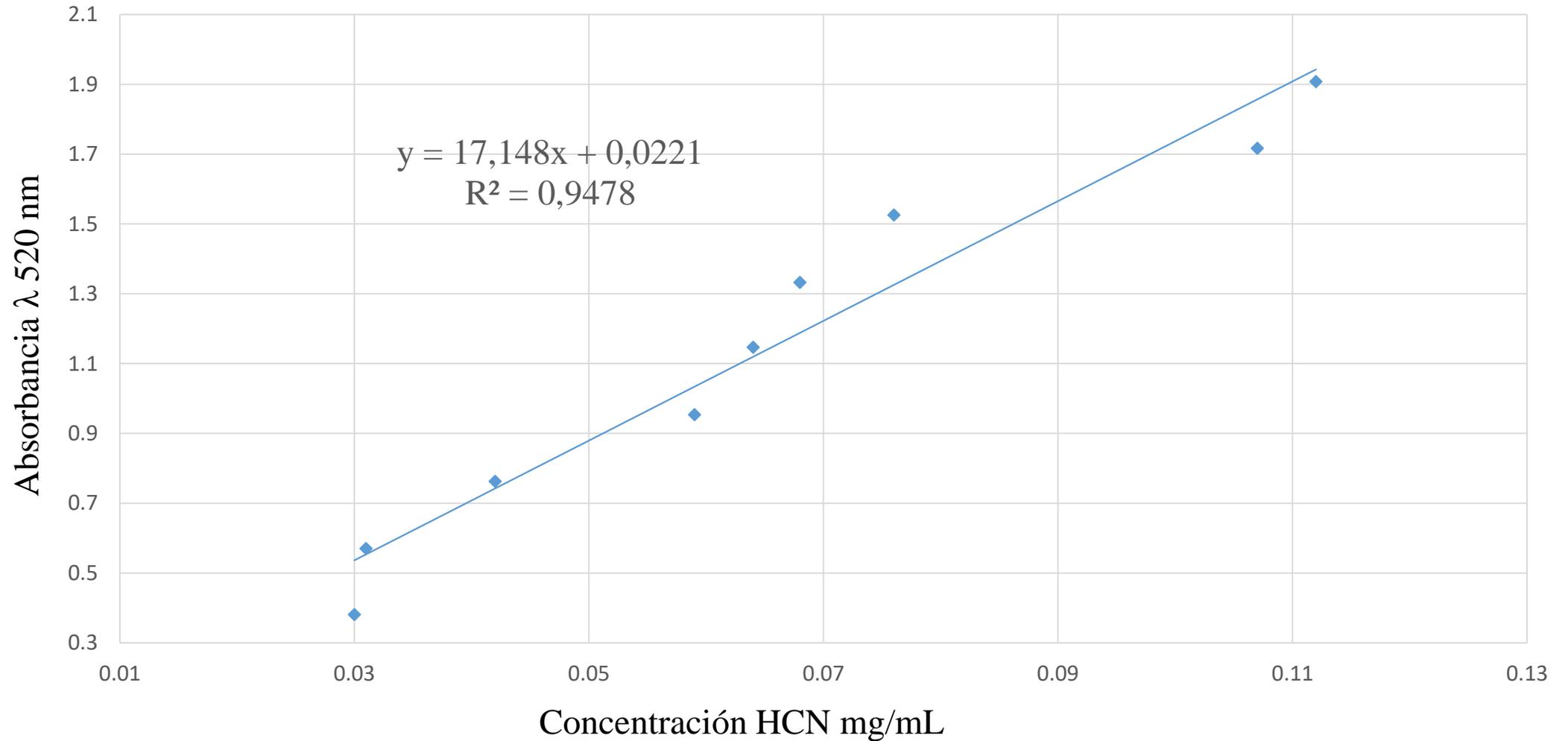
*Resolución 0631 de 2015. Valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales no domésticas –ARnD a cuerpos de agua superficiales de actividades de minería.

5. Resultados



2. Metabolitos: Concentración de HCN en las plantas

Curva de calibración



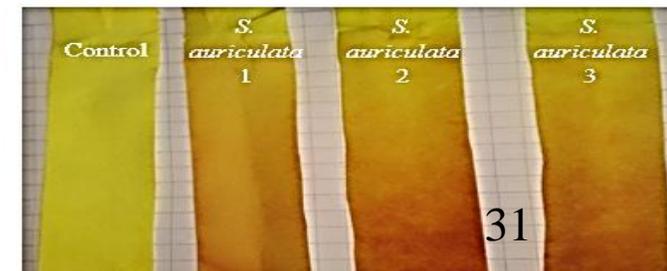
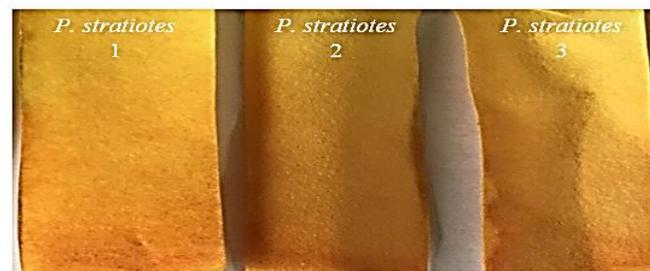
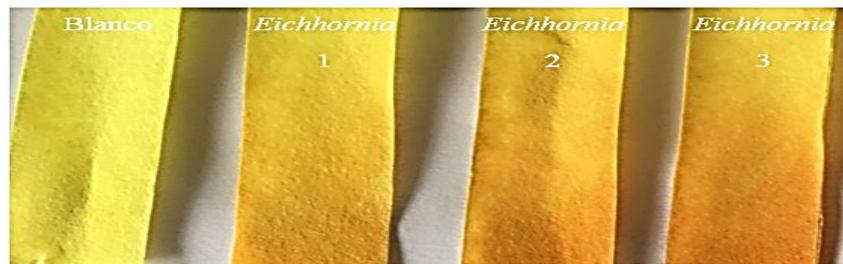
2. Metabolitos: Concentración de HCN en las plantas

Análisis Cualitativo

Especies	Rep.	Tiempo de tratamiento (Horas)		
		0 h	72 h	144 h
<i>E. crassipes</i>	1	-	-	+
	2	-	+	+
	3	-	-	+
<i>P. stratiotes</i>	1	-	+	+
	2	-	+	+
	3	-	+	+
<i>S. auriculata</i>	1	-	+	+
	2	-	+	+
	3	-	+	+

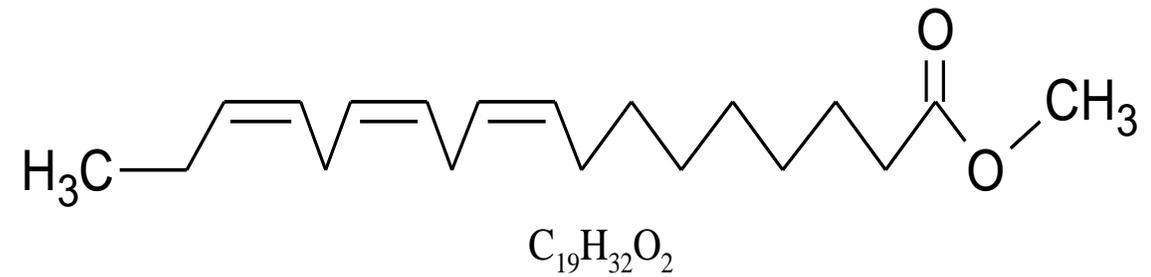
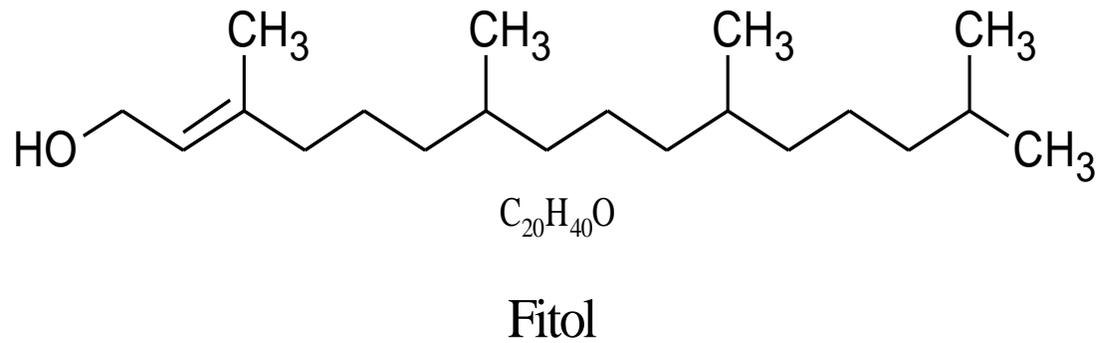
Análisis Cuantitativo

Especie	Rep.	Concentración de HCN (µg/mL)		
		0 h	72 h	144 h
<i>P. stratiotes</i>	1	0,000	0,089	0,134
	2	0,000	0,073	0,141
	3	0,000	0,105	0,139
<i>E. crassipes</i>	1	0,000	0,000	0,105
	2	0,000	0,020	0,102
	3	0,000	0,000	0,108
<i>S. auriculata</i>	1	0,000	0,039	0,102
	2	0,000	0,045	0,102
	3	0,000	0,051	0,097



2. Metabolitos

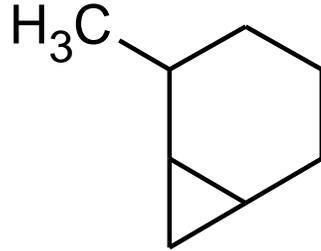
Compuestos presentes durante todo el tratamiento en las tres plantas



Éster de metilo del ácido linolénico

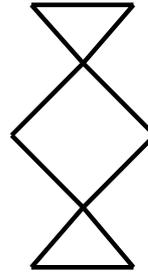
2. Metabolitos

Nuevos compuestos



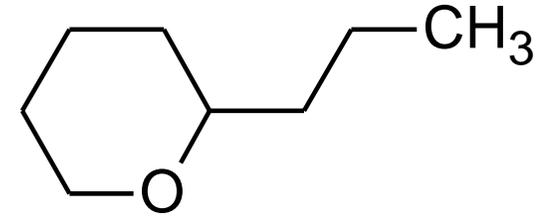
C_8H_{14}
2-Metil-Biciclo [2.2.1] heptano

Pistia stratiotes



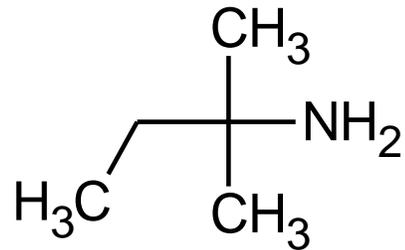
C_8H_{12}
Dispiro [2.1.2.1] octano

Pistia stratiotes



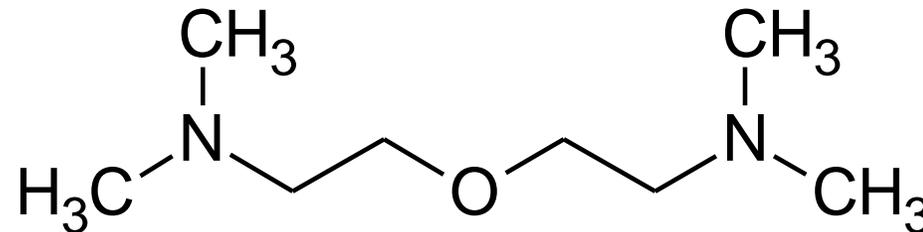
$C_8H_{16}O$
2-Propiltetrahidropirano

Pistia stratiotes



$C_5H_{13}N$
2-Metil-2-butanamina

Eichhornia crassipes



$C_8H_{20}N_2O$
2,2'-Oxibis[N,N-dimetiletilamina]
Eichhornia crassipes

2. Resultados: Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Eichhornia crassipes (Mart.) Solms

14 compuestos de naturaleza terpenoide, ésteres de metilo de ácidos grasos saturados e insaturados, compuestos nitrogenados

#	Nombre del compuesto/ Fórmula molecular	T. Ret. (Min)	Área (%)		Naturaleza	
			0 horas	144 horas		
↑	1	Éster de metilo del ácido heptadecanoico C ₁₈ H ₃₆ O ₂	16,22	7,5	10,21	Éster de metilo de un ácido graso saturado
↓	2	Éster de metilo del ácido linolénico C ₁₉ H ₃₂ O ₂	17,84	27,74	21,6	Éster de metilo de un ácido graso insaturado
↑	3	Éster de metilo del ácido tridecanoico C ₁₄ H ₂₈ O ₂	18,11		2,03	Éster de metilo de un ácido graso saturado
	4	2-Metil-2-butanamina C ₅ H ₁₃ N	19,46		2,93	Compuesto nitrogenado
	5	2,2'-Oxibis[N,N-dimetiletilamina] C ₈ H ₂₀ N ₂ O	20,82		0,61	Compuesto nitrogenado
	6	N,α-dimetil- Ciclohexanoetanamina C ₁₀ H ₂₁ N	20,82	3,08	4,64	Compuesto nitrogenado
↓	7	Ácido linolénico C ₁₈ H ₃₀ O ₂	20,93	2,24		Ácido graso insaturado
↑	8	2- Monopalmitín C ₁₉ H ₃₈ O ₄	21,14	7,46		Éster de metilo de un ácido graso saturado
↓	9	Ácido 9,12,15- (Z,Z,Z)-Octadecatrienoico C ₁₈ H ₃₀ O ₂	22,5	9,42		Ácido graso insaturado
↓	10	Escualeno C ₃₀ H ₅₀	23,64	3,26		Ácido graso insaturado

Disminuyen insaturaciones membrana = Disminuye fluidez de membrana

2. Resultados: Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Pistia stratiotes

Se identificaron 8 compuestos de naturaleza terpenoide y ésteres de metilo de ácidos grasos saturados e insaturados

#	Nombre del compuesto/ Fórmula molecular	T. Ret. (Min)	Área(%)		Naturaleza	
			0 horas	144 horas		
↓	1	Éster de metilo del ácido pentadecanoico C ₁₆ H ₃₂ O ₂	16,22	7,82	Éster de metilo de un ácido graso saturado	
↑	2	Éster de metilo del ácido linolénico C ₁₈ H ₃₀ O ₂	17,84	26,87	27,32	Éster de metilo de un ácido graso insaturado

Permanecen las insaturaciones = Disminuye fluidez de membrana

Upchurch. (2008). Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress.

Carreño, y Chaparro. (2013) Tolerancia al aluminio en especies vegetales: mecanismos y genes.

Florido y Álvarez. (2015). Aspectos relacionados con el estrés de calor en tomate (*solanum lycopersicum* l.).

2. Resultados: Análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Salvinia auriculata

11 compuestos de naturaleza terpenoide y ésteres de metilo de ácidos grasos saturados e insaturados

#	Nombre del compuesto/ Fórmula molecular	T. Ret (Min)	Área (%)		Naturaleza
			0 horas	144 horas	
1	Ester de metilo del ácido 14 metil- pentadecanoico $C_{16}H_{32}O_2$	15,90	7,74	20,93	Éster de metilo de un ácido graso saturado
2	Éster de metilo del ácido linolénico $C_{19}H_{32}O_2$	17,80	14,31	42,39	Metil éster de un ácido graso saturado
3	Éster de metilo del ácido tetradecanoico $C_{15}H_{30}O_2$	18,10		1,41	Éster de metilo de un ácido graso saturado
4	Ácido araquidónico $C_{20}H_{32}O_2$	19,20		3,09	Éster de metilo de un ácido graso insaturado
5	Éster de metilo del ácido Tridecanoico $C_{14}H_{28}O_2$	22,90		0,65	Éster de metilo de un ácido graso saturado

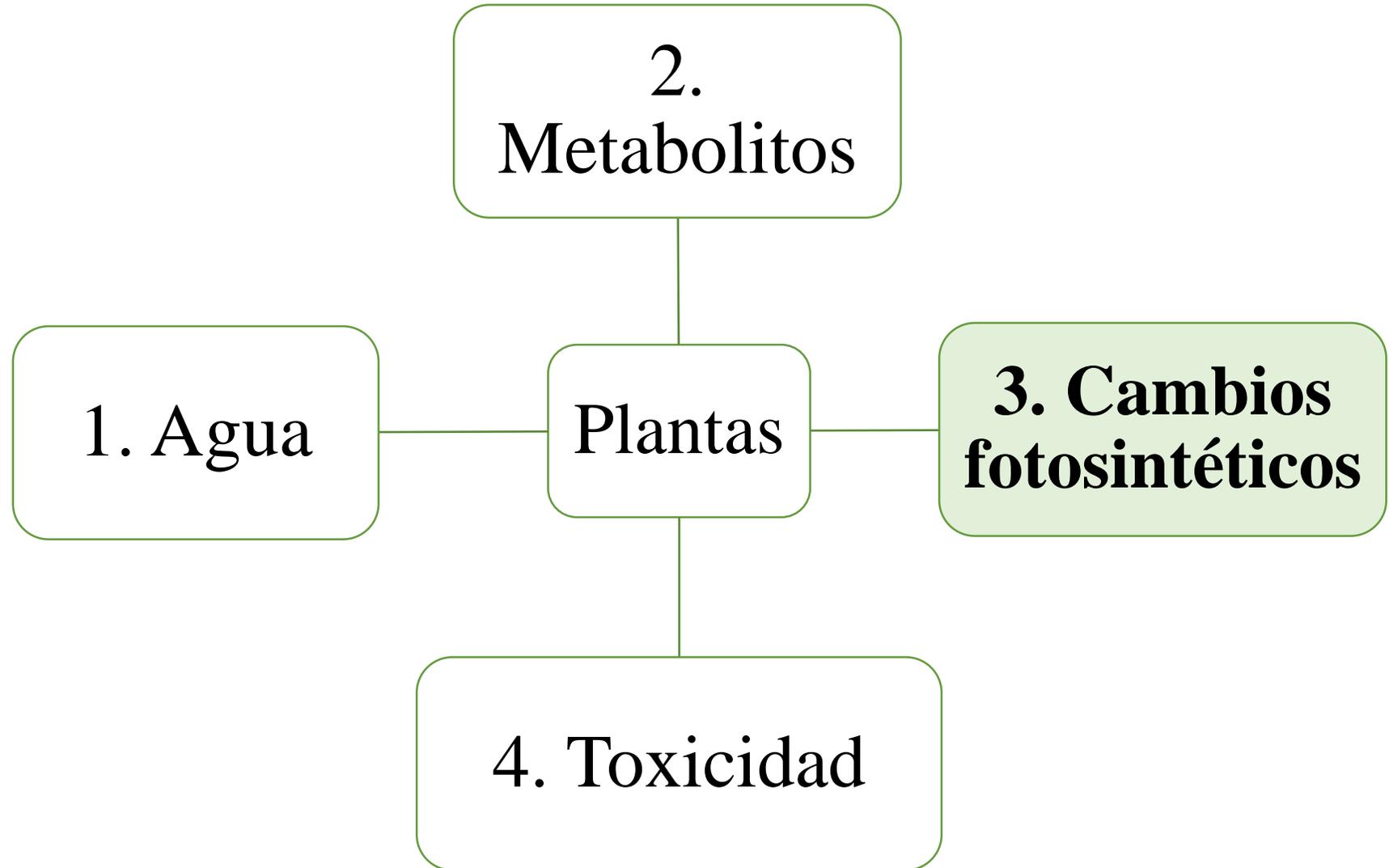
Saturaciones = disminuye la fluidez de membrana

Upchurch. (2008). Fatty acid unsaturation, mobilization, and regulation in the response of plants to stress.

Carreño, y Chaparro. (2013) Tolerancia al aluminio en especies vegetales: mecanismos y genes.

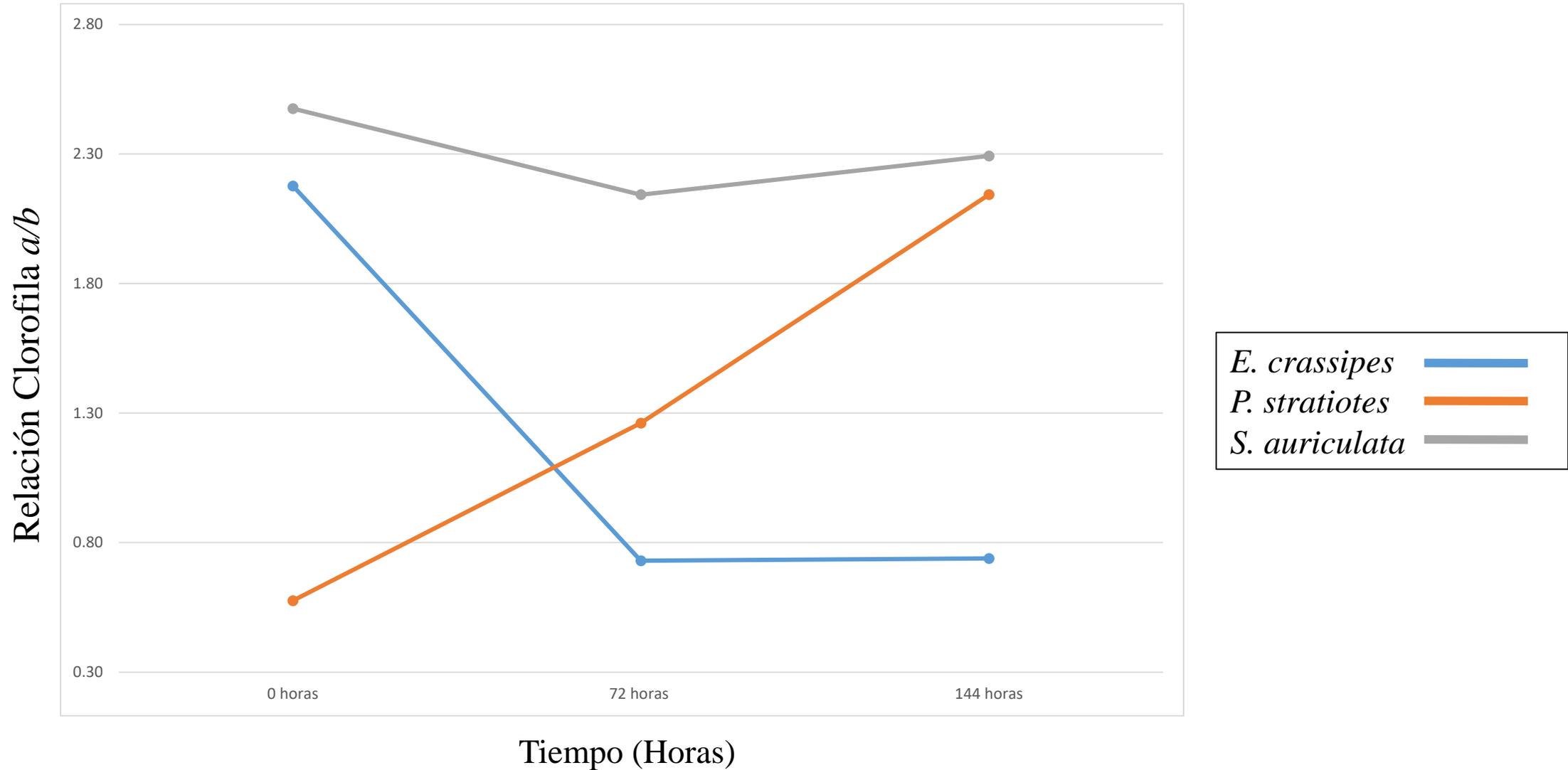
Florido y Álvarez. (2015). Aspectos relacionados con el estrés de calor en tomate (*solanum lycopersicum* l.).

5. Resultados



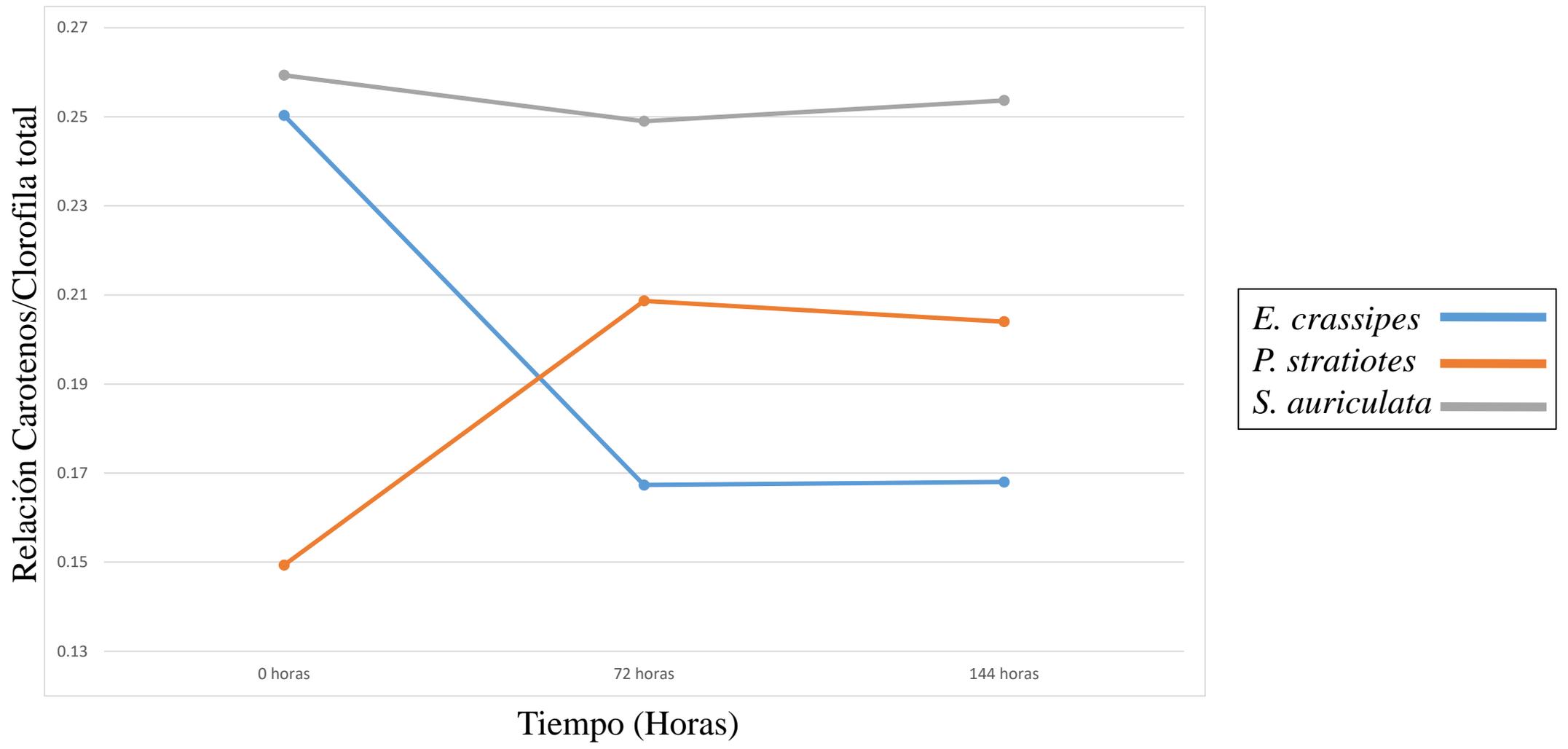
3. Cambios fotosintéticos

Variación de la Relación Clorofila *a/b*

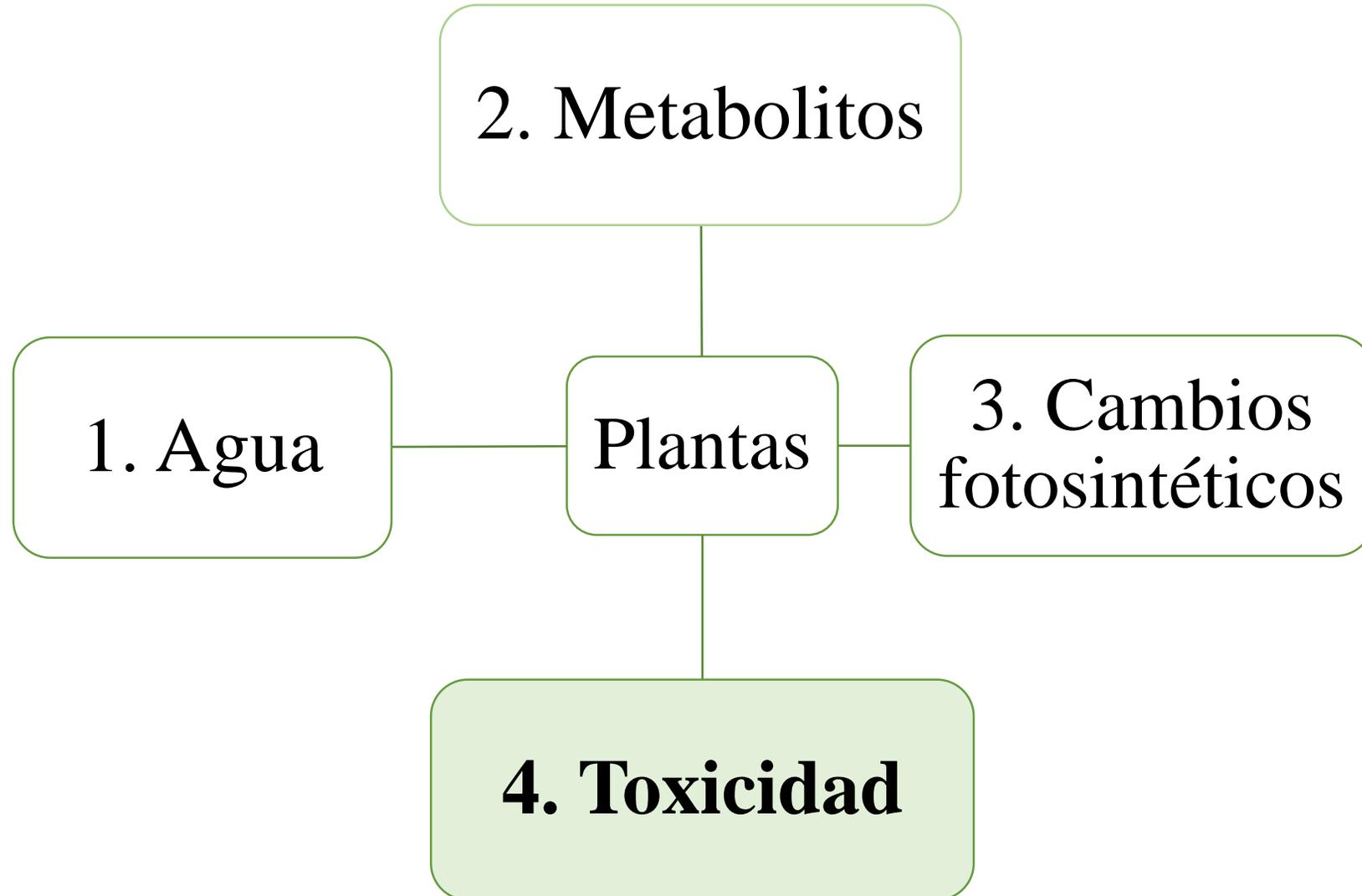


3. Cambios fotosintéticos

Variación de la relación Carotenos/Clorofila total



5. Resultados



Resultados: Ensayos de toxicidad

Daphnia pulex



No se presentó mortalidad de los individuos = baja toxicidad del extracto

Poecilia reticulata



% A.I de *Eichhornia crassipes* = 1% (1 pez hora 17)

% A.I *Pistia Stratiotes* = 2,5 % (1 pez hora 8)

% A.I *Salvinia auriculata* = 2,2% (1 pez hora 9)

5. Resumen de los resultados

	<i>P. stratiotes</i>	<i>E. crassipes</i>	<i>S. auriculata</i>
Objetivo			
Metabolitos	Insaturaciones = Aumento de la fluidez de membrana	Saturaciones = disminuye la fluidez de membrana	Saturaciones = disminuye la fluidez de membrana
CN ⁻ en hojas	0,138 µg/mL	0,105 µg/mL	0,100 µg/mL
Compuestos nitrogenados	No	Sí	No
Relación Clorofila a/b	Aumentó	Disminuyó	Permaneció constante
Relación carotenos/clorofila total	Aumentó	Disminuyó	Permaneció constante
Toxicidad	Poca toxicidad	Poca toxicidad	Poca toxicidad

6. Conclusiones

- La caracterización del agua residual producto del lavado de arenas tratadas con cianuro, permitió establecer que sus valores superan los máximos permisibles en los vertimientos de minería establecidos por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.
- La variación de la composición fitoquímica en las tres plantas puede ser el resultado de la capacidad de almacenar carbono y nitrógeno de la matriz compleja rica en cianuro en forma de metabolitos o ser producto de la hidrólisis de compuestos de mayor peso molecular durante el tratamiento. En ese sentido mediante la identificación realizada por GC-MS se determinó que el tratamiento generó modificaciones en los componentes de membrana de las especies de estudio como respuesta a las condiciones de estrés a las que fueron sometidas.

6. Conclusiones

- Se presentó una variación en el nivel fotosintético de las plantas como respuesta a las condiciones de estrés a las que se sometieron, en ese sentido, en *Eichhornia crassipes* ocurrió una disminución de la relación clorofila a/clorofila b y en *Pistia stratiotes* aumento de la relación carotenos/clorofila total, en *Salvinia auriculata* se presentó muy poca variación por lo que se presume que esta última fue la planta menos afectada por las condiciones de estrés, lo que se puede traducir en una alta tolerancia y/o adaptación de esta especie a los cambios ambientales.
- Los resultados de los bioensayos de toxicidad (*Daphnia pulex* y *Poecilia reticulata*) realizados a los extractos de las hojas de *E. crassipes*, *P. stratiotes* y *S. auriculata*, indicaron que en todos los casos (especies en estado natural y las sometidas al tratamiento) se presentó muy baja toxicidad frente a los organismos analizados; por lo que se infiere que el tratamiento con agua con una alta carga de contaminantes no implica almacenamiento o producción de compuestos tóxicos por parte de las especies de estudio, lo que facilita la disposición final de la planta sin generar ningún efecto en el ambiente.

7. Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos, se recomienda:

- Realizar estudios que permitan determinar perfiles metabolómicos en las tres plantas con el propósito de explorar y explicar de manera precisa de qué manera la planta metaboliza el contaminante.
- Hacer estudios enzimáticos mediante actividad enzimática en la especie *Salvinia auriculata* para determinar cómo la planta controla el estrés después de ser sometida al tratamiento y aislada

Referencias bibliográficas

- Bosire RV. Evaluation of Water Fern (*Salvinia molesta*) as an Alternative Source of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids for Cultured Tilapia [Tesis de Maestría]. Universidad de Nairobi. Centre for Biotechnology and Bioinformatics; 2012.
- Casierra Posada F, Ávila León O, Riascos Ortiz D. Contenido de Pigmentos Fotosintéticos en Hojas de Caléndula bajo sol y sombra. Agroecosistemas. 2012. Disponible en internet: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BR2015C00101>
- Callejas Rodrigo, Kania É, Contreras A, Peppi C, Morales L. Evaluación de un método no destructivo para estimar las concentraciones de clorofila en hojas de variedades de uva de mesa. Idesia (África). 2013 Dic; 4(31): 1-25.
- Cambrón VH, España ML, Sánchez N, Sáenz Romero C, Vargas J, Herrerías Y. Producción de clorofila en *Pinus pseudostrobus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. *Chapingo. Serie de Ciencias Forestales y de Ambiente*. 2011; 17(2): 253-260.
- Casierra F. La temperatura baja y la radiación alta en las zonas frías, son factores que pueden causar fotoinhibición en las plantas (ej. la vid en Nobsa, Boyacá). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. 2007; 1(1): 114-123
- Bonilla Barbosa JR, Santamaría Araúz, B. Plantas Acuáticas Exóticas y traslocadas invasoras. [En línea] México, 2013. [Citado 15-abril-2016] Disponible en: <http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/Invasoras/pdf/acuaticas-invasoras-cap13.pdf>
- Juárez Luna GN. Cambios en la composición del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) debido a su grado de madurez y a su transformación biotecnológica. [Tesis de Pregrado]. México D.F: Instituto Politécnico Nacional – Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; 2011.
- Ruiz Téllez T, López E, Lorenzo Granado G, Albano Pérez E, Morán López R, Sánchez Guzmán, JM. The Water Hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in the Gadiana River Basin (Spain). *Aquatic Invasions*. 2008 Feb; (3): 42-53.
- Jafari, N. Ecological and socio-economic utilization of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* Mart Solms). *Journal of Environmental Management*. 2010 Jun; (2)14: 43-49.
- Jayanthi, Ponnusamy, Thamaraiselvi, P. Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *Asian Journal of Plant Science & Research* 2012; 2(2): 115-122.

¡Muchas Gracias!

