



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

**UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERIA,
INDUSTRIA Y CONSTRUCCIÓN**

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS EN
MECÁNICAS AUTOMOTRICES, UTILIZANDO *Lolium*
perenne Y *Medicago sativa*, EN LABORATORIO**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL**

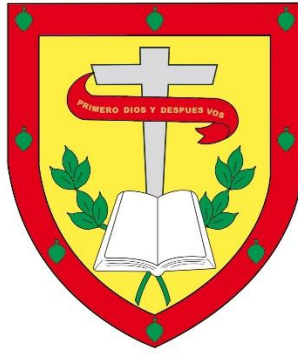
AUTOR: JORGE ANDRÉS MORENO MOLINA

DIRECTOR: ING. AUGUSTO POLIBIO MARTINEZ VEGA

CUENCA - ECUADOR

2024

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

**UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERIA,
INDUSTRIA Y CONSTRUCCIÓN**

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS EN
MECÁNICAS AUTOMOTRICES, UTILIZANDO *Lolium perenne* Y
Medicago sativa, EN LABORATORIO**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO AMBIENTAL**

AUTOR: JORGE ANDRÉS MORENO MOLINA

DIRECTOR: ING. AUGUSTO POLIBIO MARTÍNEZ VEGA

CUENCA - ECUADOR

2024

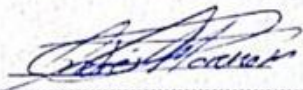
DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

Jorge Andrés Moreno Molina portador(a) de la cédula de ciudadanía N° **0106579568**. Declaro ser el autor de la obra: **"Fitorremediación de suelos contaminados en mecánicas automotrices, utilizando Lollum perenne y Medicago sativa, en laboratorio"**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, 08 de marzo de 2024

F: 

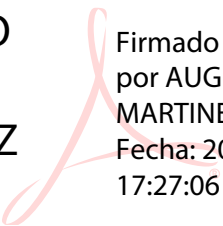
Jorge Andrés Moreno Molina

C.I. 0106579568

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Jorge Andrés Moreno Molina, bajo mi supervisión.

**AUGUSTO
POLIBIO
MARTINEZ
VEGA**



Firmado digitalmente
por AUGUSTO POLIBIO
MARTINEZ VEGA
Fecha: 2024.03.08
17:27:06 -05'00'

Ing. Augusto Polibio Martínez Vega, Mgs.

DIRECTOR

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a las personas que contribuyeron de manera significativa para el desarrollo de este trabajo. Su apoyo, conocimiento y tiempo fueron fundamentales para llevar a cabo este proyecto de investigación.

En primer lugar, agradecer a mi director de tesis, Ing. Augusto Polibio Martínez Vega, por su guía y dedicación. Sus valiosos conocimientos fueron esenciales para el éxito de este proyecto.

También expando mi gratitud a los profesores de la carrera de Ingeniería Ambiental, que gracias a sus enseñanzas he adquirido mucho conocimiento que fue de vital importancia para mi crecimiento académico.

Quiero agradecer a mi familia por todo el apoyo desde el inicio de mi carrera, a mi madre María Alexandra Molina Peralta por todo el esfuerzo que realizó para sacarme adelante, a mi tía Lucía Tereza Peralta Ordoñez, en paz descansa, por ser como una madre para mi familia y mi persona, por sus sabios consejos a lo largo de los años.

Agradezco a mis amigos y compañeros de clase por su ayuda y compañía a lo largo de los años de mi carrera.

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis está dedicado con todo el cariño y amor a las personas que han sido fuente de apoyo, no solo en este viaje académico sino también en el día a día.

A mis padres, María Alexandra Molina Peralta y Santiago Cruz Moreno Delgado, quienes desde pequeño me educaron y me aconsejaron a lo largo de mi vida y me enseñaron a seguir adelante por más difícil que sea el camino, a nunca rendirme y a perseguir mis metas.

A mi tía, Teresita Peralta que más que mi tía abuelita fue una madre para mi familia y para mí, por toda su buena voluntad de ayudarnos siempre en lo que necesitábamos por sus sabios consejos, por ser siempre tan honesta, honrada y justa, porque siempre me decía que las cosas hay que hacerlas bien y a terminar lo que se empieza, por siempre creer en mí.

A mi novia, Alejandra Jacqueline Palomeque Pazmiño por ser la persona que siempre me apoya en todo lo que hago, por no dejarme rendir y ayudarme a salir adelante, por ser la mejor persona que conozco, la que me ayuda a ser mejor y a dar lo mejor de mí.

RESUMEN

Actualmente, una de las problemáticas más incidentes en el medio es la contaminación del suelo por el derrame de elementos nocivos como el aceite residual automotriz, ocasionando impactos negativos en el suelo y sus propiedades, así como en su capacidad productiva. La fitorremediación es una alternativa eficiente que utiliza la capacidad de ciertas especies vegetales para la extracción de diferentes contaminantes. El presente proyecto de investigación, tuvo como objetivo analizar la capacidad de dos especies vegetales (*Lolium perenne* y *Medicago sativa*) para remediar suelos contaminados con aceites residuales automotrices, mediante el método experimental. Los hallazgos mostraron que, si bien, las dos especies seleccionadas tienen una buena capacidad para la extracción del contaminante, sin embargo, *Lolium perenne* resultó ser más eficiente. En el caso de *Lolium perenne* el tratamiento con 25 semillas degradó un 44% del contaminante, el tratamiendo con 50 semillas degradó un 54%, siendo el más eficiente; mientras que para el caso de *Medicago sativa*, el tratamiento con 25 semillas degradó el 23% del contaminante, siendo el menos eficiente, y el tratamiento con 50 semillas degradó el 39% del contaminante.

Palabras clave: fitorremediación, *Lolium perenne*, *Medicago sativa*, Soxhlet, aceites residuales automotrices.

ABSTRACT

One of the most prevalent environmental issues is soil contamination due to the spillage of harmful elements, such as automotive residual oil, causing negative impacts on soil's properties and productive capacity. Phytoremediation is an efficient alternative that uses the capacity of certain plant species to extract different contaminants. This research project aimed to analyze the remediation capability of two plant species (*Lolium perenne* and *Medicago sativa*) in soils contaminated with automotive residual oils using experimental methods. The findings revealed that, although both selected species have a good capacity for contaminant extraction, *Lolium perenne* proved to be more efficient. In the case of *Lolium perenne*, treatment with 25 seeds degraded 44% of the contaminant, and treatment with 50 seeds degraded 54%, being the most effective. In contrast, for *Medicago sativa*, treatment with 25 seeds degraded 23% of the contaminant, which is the least efficient, and treatment with 50 seeds degraded 39%.

Keywords: phytoremediation, *Lolium perenne*, *Medicago sativa*, Soxhlet, automotive residual oils

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN	I
CERTIFICACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
DEDICATORIA	IV
RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
ÍNDICE DE CONTENIDOS	VII
LISTA DE ILUSTRACIONES	IX
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE ANEXOS	XI
CAPÍTULO I	- 1 -
1. INTRODUCCIÓN	- 1 -
1.1 OBJETIVOS	- 3 -
1.1.1 <i>Objetivo general</i>	- 3 -
1.1.2 <i>Objetivos específicos</i>	- 3 -
1.2 JUSTIFICACIÓN	- 3 -
CAPÍTULO II	- 5 -
2. REVISIÓN DE LITERATURA	- 5 -
2.1 EL SUELO, COMPOSICIÓN Y TIPOS	- 5 -
2.1.1 <i>Definición de suelo</i>	- 5 -
2.2 CONTAMINACIÓN DEL SUELO	- 5 -
2.2.1 <i>Tipos de contaminantes</i>	- 6 -
2.2.2 <i>Contaminantes residuales provenientes de mecánicas automotrices</i>	- 6 -
2.2.3 <i>Composición</i>	- 7 -
2.2.4 <i>Características físicas, químicas y biológicas</i>	- 8 -
2.2.5 <i>Importancia del suelo</i>	- 10 -
2.3 TÉCNICAS DE REMEDIACIÓN DE SUELOS	- 11 -
2.3.1 <i>Biorremediación</i>	- 12 -
2.4 FITORREMEDIACIÓN CON GRAMÍNEAS	- 14 -
2.4.1 <i>Uso de la especie Lolium perenne para la fitorremediación de suelos</i>	- 15 -
2.5 FITORREMEDIACIÓN CON LEGUMINOSAS	- 15 -
2.5.1 <i>Uso de la especie Medicago sativa para la fitorremediación de suelos</i>	- 16 -
2.6 TÉCNICAS DE DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EN EL SUELO	- 17 -
2.6.1 <i>Método Soxhlet</i>	- 17 -
2.7 MARCO LEGAL	- 17 -
2.7.1 <i>Constitución del 2008</i>	- 17 -
2.7.2 <i>Código orgánico del ambiente</i>	- 18 -
2.7.3 <i>Ley de gestión ambiental</i>	- 21 -
2.7.4 <i>Acuerdo Ministerial 097-A, Anexos de Normativa, REFORMA LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE</i>	- 22 -
CAPÍTULO III	- 23 -
3. MATERIALES Y MÉTODOS	- 23 -

3.1	MATERIALES	- 24 -
3.2	METODOLOGÍA	- 25 -
3.2.1	<i>Caracterización inicial del suelo</i>	- 26 -
3.2.2	<i>Contaminación del suelo con aceite automotriz para simular un escenario real</i>	- 29 -
3.2.3	<i>Determinación de la eficiencia de cada tratamiento</i>	- 31 -
CAPÍTULO IV		- 33 -
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 33 -
4.1	RESULTADOS Y ANÁLISIS	- 33 -
4.1.1	<i>Resultados y análisis de la caracterización inicial del suelo</i>	- 33 -
4.1.2	<i>Resultados del proceso de la siembra de las dos especies vegetales con dos concentraciones distintas</i>	- 41 -
4.1.3	<i>Resultados de la fitorremediación y determinación del tratamiento óptimo</i>	- 42 -
4.2	DISCUSIÓN	- 44 -
CAPÍTULO V		- 47 -
5.	CONCLUSIONES	- 47 -
CAPÍTULO VI		- 49 -
6.	RECOMENDACIONES	- 49 -
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		- 50 -
ANEXOS		- 58 -

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Triángulo textural (USDA) _____	- 28 -
Ilustración 2: Tratamientos aplicados _____	- 31 -
Ilustración 3: Valores de pH al inicio y final de la experimentación _____	- 34 -
Ilustración 4: Valores de conductividad al inicio y final de la experimentación _____	- 35 -
Ilustración 5: Determinación de la textura del suelo utilizado _____	- 36 -
Ilustración 6: Resultados de la determinación de bacterias en el suelo _____	- 38 -
Ilustración 7: Resultados de la determinación de hongos en el suelo _____	- 38 -
Ilustración 8: Porcentaje de germinación de cada tratamiento _____	- 41 -
Ilustración 9: Resultados del proceso de fitorremediación para cada tratamiento _____	- 43 -

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Ventajas y desventajas de la fitorremediación _____	- 13 -
Tabla 2: Criterios de remediación (Valores máximos permisibles) _____	- 22 -
Tabla 3: Porcentajes para la determinación de la textura del suelo _____	- 36 -
Tabla 4: Valores para la determinación de la humedad del suelo _____	- 37 -
Tabla 5: Valores para la determinación del contenido de materia orgánica en el suelo _____	- 37 -
Tabla 6: Resultados de la caracterización inicial del suelo _____	- 39 -
Tabla 7: Resultados de la cantidad de individuos germinados en cada tratamiento _____	- 41 -
Tabla 8: Resultados del proceso de fitorremediación, expresados en concentración y porcentaje	- 42 -

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Preparación del suelo para la aplicación del contaminante _____	- 58 -
Anexo 2: Determinación de la cantidad de contaminante a utilizar _____	- 58 -
Anexo 3: Mezcla de la tierra con el aceite residual automotriz _____	- 59 -
Anexo 4: Siembra de las unidades experimentales _____	- 59 -
Anexo 5: Preparación de los medios de cultivo para la determinación de la presencia de microorganismos en el suelo _____	- 60 -
Anexo 6: Tamices para la determinación de la textura del suelo _____	- 60 -
Anexo 7: Determinación de la conductividad del suelo mediante el uso del multiparamétrico _____	- 61 -
Anexo 8: Conteo del número de individuos germinados _____	- 61 -
Anexo 9: Análisis de la cantidad de hidrocarburo eliminado luego del lavado de suelo en el equipo Soxhlet _____	- 62 -
Anexo 10: Determinación de pesos para el cálculo de la humedad del suelo _____	- 62 -
Anexo 11: Determinación de la concentración del contaminante en cada análisis realizado _____	- 63 -

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los recursos naturales de mayor importancia para el desarrollo de la vida, es fundamental para la producción de alimentos, para el mantenimiento de ecosistemas, la provisión de hábitat para diferentes seres vivos como plantas, animales y microorganismos y es el espacio en el cual se llevan a cabo una infinidad de actividades humanas. De manera general, el suelo desempeña un papel crucial en el desarrollo de la vida, al facilitar diversos procesos y permitir el crecimiento de organismos como plantas, animales y microorganismos (Rodríguez et al., 2019). Ofrecen una extensa gama de bienes y servicios ecosistémicos, entre los cuales se menciona el suministro de alimentos, la regulación de la calidad de aire, el control de inundaciones, la absorción de dióxido de carbono, purificación del agua, protección para la biodiversidad, provisión de materias primas, entre otras (Burbano, 2016; López, 2016).

No obstante, pese a su importancia, hoy en día este recurso se encuentra ampliamente amenazado por una diversidad de actividades antrópicas como: las malas prácticas de agricultura y ganadería, la sobreexplotación de recursos, la destrucción de la cobertura vegetal, el cambio de uso de suelo, el derrame de contaminantes, la minería, la generación de residuos sólidos, entre otras (Rodríguez et al., 2019). Todo ello, genera graves consecuencias como la pérdida de suelos aptos para cultivo, disminución de la fertilidad y capacidad de este recurso para la producción, la disminución de la biodiversidad, el desplazamiento de especies emblemáticas, impactos económicos negativos, empobrecimiento de las naciones, contaminación de fuentes de agua adyacentes o subterráneas, incidencia en el cambio climático, entre otras (López, 2002; Foladori, 2001; Molina y Lozano, 2015).

Dentro de este contexto, uno de los problemas que ha generado interés en la comunidad científica es la contaminación de los suelos por el vertido de contaminantes derivados de hidrocarburos, entre ellos, los aceites residuales provenientes de talleres y mecánicas automotrices (Benavides et al., 2006). Usualmente, la contaminación por estos compuestos deriva de la gestión inadecuada de estos residuos, así como la falta de consciencia ambiental de la población, que puede desencadenar en el vertido de estos contaminantes en el suelo. Además, hoy en día ha tomado mayor incidencia, debido al incremento acelerado del uso de vehículos y maquinaria. El vertido de estos contaminantes en el suelo conlleva a la contaminación del mismo, a la alteración de sus propiedades y su capacidad productiva, además de repercutir sobre la biodiversidad y la salud humana (Barrios et al., 2015).

Si bien, se debe hacer frente a esta problemática desde la raíz de la misma, es decir, desde la gestión de estos residuos, es importante también dar atención a aquellas zonas que ya puedan encontrarse afectadas y que requieran de la aplicación de procesos de remediación. Hoy en día existe una infinidad de estrategias para la remediación de suelos contaminados, muchas de estas suelen ser costosas y requieren además de procesos complejos que, acarrearán consigo efectos

adversos (Volke y Velasco, 2002). No obstante, también existen técnicas que se basan en el aprovechamiento de procesos naturales para la recuperación de estos recursos degradados, una de estas es la fitorremediación. Este enfoque aprovecha las propiedades de las plantas para degradar compuestos de origen diverso, incorporándolos a su metabolismo y eliminándolos del medio natural sin generar grandes repercusiones, así mismos, ha sido ampliamente utilizado gracias a su eficiencia y bajo costo en cuanto se refiere a la recuperación de suelos que han sido afectados por diversos contaminantes (Buendía et al., 2014).

En base a ello, y pese a que la comunidad científica se encuentra en constante investigación y desarrollo, aún existen vacíos en cuanto al uso de procesos de fitorremediación, para la recuperación de suelos que han sido afectados por el derrame de contaminantes como los aceites residuales automotrices. Algunas especies de plantas llevan a cabo este proceso de remediación del suelo de manera más eficiente que otras, por lo que los estudios buscan identificar aquellas especies óptimas para la degradación de contaminantes, considerando factores como el tipo de suelo, el tiempo de remediación y el tipo de contaminante (Martínez et al., 2011).

Si bien, existen trabajos que se han centrado en la búsqueda de especies altamente eficientes, todavía existen ciertas falencias bajo este contexto. Entre algunas especies estudiadas se encuentran *Lolium perenne* y *Medicago sativa*, mismas que han demostrado alta eficiencia en cuanto a su capacidad para remediar suelos contaminados por diversos agentes (Masu et al., 2018; Muhammad et al., 2023). Existe poca información con respecto a la capacidad de estas especies para remediar suelos afectados por el vertido de aceites residuales automotrices.

En base a ello, la presente investigación buscó indagar en la capacidad de estas especies para hacer frente a la problemática descrita, además de comparar la eficiencia entre cada una de ellas y la variación de la capacidad de fitorremediación por la variación de densidades de siembra. Para ello, se llevó a cabo un proceso experimental en el cual se llevó a cabo una fitorremediación ex situ controlada utilizando las especies mencionadas, en dos densidades diferentes para cada una, y comparando la variación y la eficiencia de cada tratamiento aplicado.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Evaluar la fitorremediación de suelos contaminados con aceites y lubricantes residuales automotrices mediante la utilización de *Lolium perenne* y *Medicago sativa* tendiente a presentar alternativas para recuperar suelos degradados.

1.1.2 Objetivos específicos

- Caracterizar el suelo inicial mediante análisis físico-químicos con el fin de establecer la línea base.
- Aplicar los tratamientos con *Lolium perenne* y *Medicago sativa* con dos densidades conocidas de plantas para realizar el proceso de fitorremediación.
- Determinar la concentración del contaminante mediante el método Soxhlet para establecer la eficiencia de degradación del contaminante por la aplicación de 2 especies de plantas en dos densidades de siembra diferentes.

1.2 Justificación

El desarrollo del presente proyecto de investigación tiene su fundamento en la necesidad de buscar alternativas más eficientes y menos costosas que permitan la recuperación de suelos que han sido degradados como consecuencia del vertido de contaminantes. El derrame de aceites y lubricantes provenientes de mecánicas automotrices en un problema que ha ido incrementando en la actualidad debido a la falta de acciones preventivas y de manejo de estos residuos, provocando daños en el medio natural, especialmente en el suelo que es un recurso vital para el ser humano. Si bien, existen diferentes alternativas que permiten remediar suelos contaminados, muchas de estas alternativas representan un alto costo además de impactos colaterales en el medio. Con base en lo anteriormente expuesto, se exploraron opciones como la fitorremediación con el propósito de facilitar la rehabilitación de dichos suelos mediante métodos de bajo impacto ambiental y reducidos costos económicos.

Las especies vegetales utilizadas, *Lolium perenne* y *Medicago sativa*, fueron seleccionadas por sus antecedentes previos como plantas empleadas para la fitorremediación de suelos degradados por la presencia de diversos contaminantes. Así también, sabiendo que *Lolium perenne* es una gramínea, se conoce que este tipo de plantas son utilizadas dentro de procesos de restauración de suelos debido a que son plantas que permiten estabilizar el suelo previniendo la erosión y mejorando su fertilidad. Por otra parte, *Medicago sativa* es una leguminosa que ha sido, al igual que la especie anterior, utilizada en gran medida dentro de la restauración de suelos degradados debido a su facilidad de crecimiento y su capacidad para mejorar el suelo, además de ser una especie que permite la fijación de nitrógeno en el suelo.

Además de esto, se buscó determinar la especie con mejor capacidad para la fitorremediación y el tratamiento más óptimo a partir de la prueba de siembra en diferentes densidades. Por lo tanto, este proyecto buscó aportar información valiosa con respecto a la capacidad de las plantas mencionadas para remediar suelos contaminados con aceites y lubricantes, respondiendo a un problema creciente en la actualidad. Así mismo, cimenta las bases para el desarrollo de nuevos trabajos de investigación fundamentados en la remediación de suelos a partir del uso de especies vegetales óptimas para cada caso.

CAPÍTULO II

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El suelo, composición y tipos

2.1.1 Definición de suelo

El suelo es la capa superficial que tiene nuestro planeta y, de manera general, es una mezcla de materia orgánica, minerales, gases, líquidos y organismos vivos que, en conjunto, permiten el desarrollo de las reacciones que aquí se dan, y por consecuencia, la vida misma (Rodríguez et al. 2019). El suelo es un componente fundamental del ecosistema terrestre, que sirve como un medio crítico para el crecimiento de las plantas, un hábitat para diversos organismos y un regulador de varios procesos biogeoquímicos (Weil y Brady, 2002).

La definición de suelo varía según el área de interés que se involucra con él. Desde una perspectiva geotécnica, se considera como el material sin consolidar que se encuentra sobre el lecho rocoso. Para la ingeniería civil, es el material sobre el que se construye y excava, siendo sus propiedades determinantes para el tipo y características de la obra a construirse. Desde el punto de vista agrícola, el suelo es la capa de material fértil que recubre la superficie de la Tierra y que es explotada por las raíces de las plantas, a partir de la cual obtienen: sostén, nutrimentos y agua. Además, desde una perspectiva ambiental, el suelo se define como la capa superficial de material mineral y orgánico, no consolidado, que sirve de medio natural para el crecimiento de las plantas, y que ha sido sujeto y presenta los efectos de los factores que le dieron origen (United States Department of Agriculture, 2018).

Jaramillo (2002), cita a varios autores y sus definiciones con respecto a lo que es el suelo. Dentro de ello, menciona que Hillel (1998), describe el suelo como un cuerpo natural que interactúa dinámicamente con la atmósfera y los estratos inferiores, influyendo en el clima y el ciclo hidrológico del planeta, y sirviendo como medio de crecimiento para una diversidad de organismos vivos. Además, juega un papel ambiental puesto que, gracias a agentes físicos, químicos y biológicos, permite llevar a cabo la descomposición de materiales de desecho y recicla nutrientes para la regeneración continua de la vida en la Tierra.

2.2 Contaminación del suelo

La contaminación del suelo es un problema ambiental significativo que requiere una atención urgente a nivel mundial. Según el Informe Especial sobre el Suelo y el Cambio Climático de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Rodríguez et al., 2019), la contaminación del suelo se ha identificado como una de las principales amenazas para este recurso, lo que afecta los suelos en todo el mundo. Esta problemática no solo afecta el medio

ambiente, sino que también tiene consecuencias para la salud humana y la seguridad alimentaria, ya que puede contaminar las aguas subterráneas y superficiales, y afectar la calidad de los cultivos.

Entre algunas de las principales causas de contaminación del suelo se mencionan actividades como la industria, la minería, la mala gestión de desechos, la agricultura, la ganadería y la construcción de infraestructuras urbanas y de transportes (Jiménez, 2017). Conocer las causas de la contaminación de los suelos permite establecer planes de manejo con el fin de regular las actividades que generen impactos sobre este recurso; además, facilita la selección y delimitación de métodos para la restauración en caso de que la contaminación o degradación ya se haya presentado. Así mismo, conocer el tipo de contaminante es fundamental, dado que, a partir de esta información, y bajo diferentes criterios técnicos, es posible seleccionar los tratamientos más eficientes para la recuperación de suelos afectados.

2.2.1 Tipos de contaminantes

La degradación del entorno natural ocurre debido a la introducción de diversos tipos de energía, seres vivos o compuestos químicos, lo cual influye de manera adversa en las particularidades de los ecosistemas y altera su habilidad para procesar o descomponer estas sustancias. Esta introducción de elementos contaminantes es resultado tanto de las acciones humanas, conocidas como actividades antropogénicas, como de procesos naturales. En términos generales, estos contaminantes se pueden categorizar de la siguiente manera:

- Contaminantes orgánicos: son aquellos que abarcan una variedad de compuestos, como: hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), PCBs, dioxinas, hidrocarburos derivados del petróleo, solventes clorados, sustancias aromáticas utilizadas en la fabricación de tintes, explosivos, productos farmacéuticos, pesticidas (herbicidas, insecticidas y fungicidas), surfactantes, entre otros. En comparación con los compuestos inorgánicos, estos contaminantes poseen una menor toxicidad para las plantas debido a su menor reactividad y su capacidad de acumularse en cantidades más reducidas (Cherian y Oliveira, 2005).
- Contaminantes inorgánicos: abarcan elementos como los metales pesados, como el Cobalto (Co), Cromo (Cr) o Cobre (Cu), así como elementos no metálicos como el Arsénico (As) y el Boro (B), entre otros (Navarro et al., 2007).

2.2.2 Contaminantes residuales provenientes de mecánicas automotrices

Las actividades realizadas a cabo en talleres mecánicos y servicios automotrices pueden generar diversos contaminantes que impactan tanto en el medio ambiente como en la salud humana. Algunos de los contaminantes provenientes de estos establecimientos incluyen aceites usados, fluidos de frenos y refrigerantes, líquidos de lavado, partículas de frenado y desgaste, gases de escape, residuos de pintura y disolventes, baterías usadas, neumáticos usados, residuos de filtros,

metales pesados y otros contaminantes. La gestión adecuada de estos contaminantes es esencial para prevenir la contaminación del suelo, agua y aire. Además, en caso de haber sido vertidas en los diferentes sistemas naturales, es primordial la implementación de metodologías para su restauración (Andrade, 2015; Barrera y Velecela, 2015).

a. *Aceite residual automotriz*

El aceite residual de los vehículos representa una combinación de moléculas impermeables de hidrocarburos, que incluyen alifáticos, aromáticos, compuestos policíclicos y metales pesados. Estos elementos tienen un impacto adverso en el suelo, deteriorando sus características físicas, químicas y biológicas, lo que resulta en una disminución de su calidad (Juárez y Sánchez, 2014). Así mismo, este compuesto ocasiona el impedimento del intercambio gaseoso en el suelo, inhibe la mineralización de la materia orgánica presente, irrumpe en los ciclos biogeoquímicos y genera daños en la capacidad productiva de las tierras y la calidad de los alimentos (Balderas y Sánchez, 2015). Usualmente, este contaminante suele ser eliminado del suelo por medio de la aplicación de distintos métodos químicos; no obstante, la desventaja de esto es los efectos colaterales que implica, como la presencia de residuos tóxicos (Alonso et al., 2018). Por otra parte, otros autores señalan que emplear metodologías de biorremediación o fitorremediación resultan más eficientes, debido a su bajo costo y por ser, también, métodos más amigables con el medio ambiente.

Padilla et al. (2018), expresan que algunas de las principales consecuencias del aceite residual al ser derramado en el suelo son la infertilidad en el mismo, transformación de la vegetación y muerte de la cobertura vegetal. Además, no solo representa una problemática en el suelo, sino que también genera contaminación atmosférica al entrar en contacto con la luz solar, puesto que emana compuestos tóxicos. Así mismo, puede ocasionar contaminación del recurso hídrico, esto a causa del derrame de estos que, según la composición del suelo, pueden filtrarse hasta llegar a las capas subterráneas alcanzando los acuíferos. Por ello, es imprescindible que en las mecánicas, talleres y lubricadoras se aplique una gestión adecuada para estos residuos, de tal manera que se eviten daños en el medio ambiente, especialmente en los suelos.

2.2.3 Composición

La composición del suelo es una mezcla compleja y dinámica de varios componentes. El suelo se compone principalmente de cuatro constituyentes principales: materia mineral, materia orgánica, aire y agua. La materia mineral se obtiene a través de la desintegración y descomposición de rocas, mientras que la materia orgánica se deriva de la descomposición de residuos vegetales, restos de animales y tejidos microbianos. El suelo también contiene agua obtenida de la atmósfera y diversas reacciones dentro del suelo, así como aire o gases de la atmósfera y las actividades de raíces, microbios y otros organismos del suelo. El suelo se divide en varias fracciones según su tamaño, como arena, limo y arcilla, cada una de las cuales influye en diferentes propiedades físicas y químicas. La composición elemental del componente inorgánico (materia mineral) del suelo varía según el tipo de rocas a partir de las cuales se forma, estando presentes cationes importantes como

Si, Al y Fe en proporciones variables. El suelo es un sistema natural dinámico y diverso que desempeña un papel crucial en el sustento de la vida en la Tierra, sirviendo como proveedor principal de nutrientes y agua para la vida vegetal y sustentando una comunidad diversa de organismos (Kalev y Toor, 2018; Fassbender y Bornemisza, 1994).

2.2.4 Características físicas, químicas y biológicas

b. Características físicas

Las características físicas del suelo incluyen la textura, la estructura, la consistencia, la porosidad, la densidad aparente, la infiltración del agua, el color y la humedad (Rodríguez et al., 2019; Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2020; Rucks et al., 2004).

- La textura se refiere a la proporción de arena, limo y arcilla presentes en el suelo, lo que influye en el comportamiento del suelo en términos de movimiento de agua, aireación, susceptibilidad a la compactación y erosión.
- La estructura del suelo se refiere a la organización de las partículas del suelo en agregados estables, lo que influye en la aireación, el movimiento del agua, la conducción de calor y el crecimiento de las raíces de las plantas.
- La consistencia se refiere a la resistencia a la deformación y depende del contenido de agua del suelo, lo que determina el momento oportuno de labranza y permite estimar la humedad del suelo mediante el tacto.
- La porosidad del suelo se refiere a la cantidad de espacio entre las partículas, lo que afecta la circulación del aire y el almacenamiento de agua.
- La densidad aparente del suelo se refiere a la masa por unidad de volumen, lo que influye en la capacidad de retención de agua y aireación del suelo.
- La infiltración del agua se refiere a la entrada del agua, lo que indica la capacidad del suelo para permitir el movimiento del agua a través del perfil.
- El color del suelo afecta la temperatura y la humedad, y puede indicar su composición y las condiciones a las que se está sometiendo.
- La humedad es la cantidad de agua contenida en el suelo, lo que actúa como portador de nutrientes para las plantas y contribuye a la regulación de la temperatura del suelo.

- La compactación del suelo se refiere al aumento de la densidad aparente o la disminución en la porosidad del suelo, lo que afecta las funciones del suelo y dificulta la penetración de las raíces y el intercambio de agua y gases.

c. Características químicas

Las características químicas del suelo incluyen propiedades como el pH, la capacidad de intercambio catiónico (CIC), la presencia de macro y micronutrientes, la salinidad, la conductividad eléctrica, la presencia de materia orgánica y la concentración de elementos tóxicos (Martínez et al., 2014; Fassbender y Bornemisza, 1994).

- El pH del suelo es una medida de su acidez o alcalinidad, influye principalmente en la disponibilidad de nutrientes para las plantas, toxicidad, actividad microbiana e incluso en la estructura del suelo.
- La CIC del suelo hace referencia a la capacidad que este posee para retener y liberar cationes, lo que influye en la disponibilidad de nutrientes para las plantas. La presencia de macro y micronutrientes en el suelo es crucial para el crecimiento de las plantas, y su disponibilidad está influenciada por factores como el pH y la CIC.
- La salinidad se refiere a la cantidad de sales disueltas en el suelo, lo que puede afectar negativamente el crecimiento de las plantas.
- La conductividad eléctrica del suelo es una medida de su capacidad para conducir la corriente eléctrica, lo que está relacionado con la salinidad.
- La presencia de materia orgánica en el suelo es importante para su fertilidad, estructura y capacidad de retención de agua.
- La concentración de elementos tóxicos en el suelo puede afectar negativamente el crecimiento de las plantas y la salud humana.

Estas características químicas del suelo son fundamentales para comprender su capacidad para soportar la vida vegetal y su idoneidad para diferentes usos, como la agricultura, la silvicultura y la restauración de ecosistemas.

d. Características biológicas

Las características biológicas del suelo se refieren a la presencia y la actividad de organismos vivos en el suelo. De acuerdo con la FAO (2020), entre algunas de las características biológicas más importantes del suelo se incluyen:

- Microorganismos: son esenciales para la salud del suelo. Esto incluye bacterias, hongos, actinomicetos y otros microorganismos. Descomponen materia orgánica, fijan nutrientes, y participan en ciclos biogeoquímicos clave.
- Hongos: descomponedores desempeñan un papel crucial en la descomposición de materia orgánica en el suelo. Además, algunos hongos forman asociaciones simbióticas con las raíces de las plantas, como las micorrizas, que mejoran la absorción de nutrientes.
- Raíces de las plantas: no solo anclan las plantas al suelo, sino que también liberan compuestos orgánicos que alimentan a los microorganismos del suelo y mejoran la estructura del suelo.
- Insectos y otros invertebrados: la fauna del suelo, como lombrices de tierra, ácaros, nematodos e insectos, contribuye a la descomposición de la materia orgánica y al ciclo de nutrientes. Además, su actividad de excavación puede influir en la estructura del suelo.
- Materia orgánica: es una característica biológica importante del suelo. La descomposición de residuos de plantas y animales por microorganismos y otros descomponedores libera nutrientes en formas disponibles para las plantas.
- Ciclos biogeoquímicos: los ciclos de nutrientes, como el ciclo del nitrógeno, el ciclo del carbono y el ciclo del fósforo, son procesos biológicos que involucran a organismos del suelo en la transformación y disponibilidad de nutrientes esenciales.
- Actividad enzimática: los microorganismos en el suelo producen enzimas que descomponen sustancias orgánicas en formas más simples. La actividad enzimática es un indicador de la salud del suelo y su capacidad para sostener la vida.

2.2.5 Importancia del suelo

El suelo es un recurso natural crucial que desempeña un papel fundamental en varios aspectos de la vida en la Tierra. Su importancia se manifiesta en múltiples formas (Montaño y García, 2016; Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2018; Burbano, 2016).

- Soporte para la vida vegetal: proporciona un medio en el cual las plantas pueden crecer y desarrollarse. Es esencial para la producción de alimentos, ya que la mayoría de los cultivos se cultivan en el suelo.
- Ciclo de nutrientes: el suelo actúa como un reservorio de nutrientes esenciales para las plantas, como: nitrógeno, fósforo y potasio. Estos nutrientes son fundamentales para el crecimiento y desarrollo de las plantas y, a su vez, para la cadena alimentaria.

- Filtración y purificación del agua: tiene la capacidad de filtrar y purificar el agua a medida que esta se mueve a través de él. Esto ayuda a mantener la calidad del agua subterránea y evita la contaminación de las fuentes de agua.
- Hábitat para organismos: el suelo alberga una diversidad de organismos, desde microorganismos hasta insectos y pequeños vertebrados. Estos organismos desempeñan papeles clave en la descomposición de materia orgánica, la formación de nutrientes y la mejora de la estructura del suelo.
- Almacenamiento de carbono: los suelos juegan un papel importante en el ciclo del carbono. Actúan como un almacén de carbono orgánico, ayudando a regular el equilibrio de gases de efecto invernadero en la atmósfera y contribuyendo a la mitigación del cambio climático.
- Soporte para infraestructuras: proporciona una base sólida para edificaciones e infraestructuras. Su capacidad para soportar cargas es crucial para la construcción de carreteras, edificios y otras estructuras.
- Biodiversidad: los diferentes tipos de suelos albergan una amplia variedad de flora y fauna. La diversidad biológica en el suelo contribuye a la salud y la resiliencia de los ecosistemas terrestres.
- Reciclaje de desechos: los microorganismos en el suelo participan en la descomposición de residuos orgánicos, contribuyendo al reciclaje de materiales y a la renovación de nutrientes en el ciclo biogeoquímico.
- Estabilidad de laderas y control de la erosión: la vegetación en el suelo, junto con sus raíces, ayuda a estabilizar laderas y reduce la erosión del suelo. Esto es crucial para prevenir deslizamientos de tierra y pérdida de suelo fértil.
- Estética y recreación: los suelos bien cuidados también contribuyen a la estética del paisaje y proporcionan áreas para actividades recreativas al aire libre.

En resumen, el suelo es un recurso esencial que sustenta la vida en la Tierra, influye en la salud ambiental y tiene un impacto directo en la calidad de vida de los seres humanos. La conservación y gestión sostenible del suelo son imperativos para garantizar su continuidad y preservar sus funciones cruciales.

2.3 Técnicas de remediación de suelos

La remediación del suelo es el procedimiento mediante el cual se restaura la utilidad de un terreno que previamente estaba contaminado. En términos generales, existen dos enfoques para llevar a cabo la remediación del suelo: las tecnologías de limpieza y las tecnologías de estabilización.

Las tecnologías de limpieza tienen como objetivo reducir la cantidad de contaminantes, ya sea destruyéndolos o eliminándolos por completo. Por otro lado, las tecnologías de estabilización, también conocidas como contención, buscan disminuir la movilidad y la disponibilidad de los contaminantes en el suelo. Tanto la limpieza como la estabilización del suelo pueden llevarse a cabo en el mismo lugar donde se encuentra el suelo contaminado (in situ) o fuera de él (ex situ), y pueden implicar procesos físicos, químicos o biológicos (Delgadillo et al., 2011).

Si bien, existen diferentes técnicas de remediación de suelos que emplean diferentes mecanismos ya sea físicos o químicos, una de las técnicas más sencillas y que menor impacto generan sobre el medio son las técnicas de biorremediación, puesto que estas se basan en el uso de organismos vivos, sean plantas, hongos o bacterias, para la remoción de contaminantes. En el siguiente apartado, se presenta mayor información sobre esta técnica de remediación del suelo.

2.3.1 Biorremediación

La biorremediación es la aplicación o uso de los mismos microorganismos presentes en el suelo y subsuelo para limpiar suelos contaminados, lo que la hace una técnica altamente práctica. Es esencial recordar que el suelo y el subsuelo se componen de partículas inorgánicas, materia orgánica, agua, aire y microorganismos. Estimula el crecimiento de algunos organismos que usan algunos contaminantes como fuente de energía y alimento (Iturbe, 2010). La biorremediación es una alternativa viable para la remediación de suelos contaminados sin necesidad de preparar o excavar el material afectado. Sin embargo, es necesario tener en cuenta varios aspectos para implementarlo, como el impacto ambiental, la escala de la actividad industrial, el costo en comparación con otros métodos, la accesibilidad a las áreas contaminadas, la determinación del porcentaje de tratamiento, la velocidad del proceso y los riesgos.

La biorremediación puede ser de dos tipos, según el lugar en el cual se realice, puede ser “in situ” o “ex situ”. El método de biorremediación de suelos “in situ” se divide en tratamiento de compuestos volátiles y tratamiento de compuestos semivolátiles y no volátiles. Este método implica el uso de microorganismos para convertir compuestos peligrosos del suelo contaminado en productos menos dañinos. El proceso incluye aspectos físicos, químicos y biológicos, incluido el análisis fisicoquímico del suelo y los contaminantes, la evaluación biológica del suelo y el uso de nutrientes y tensioactivos en el tratamiento. Independientemente del método utilizado para eliminar la contaminación del suelo, existen una serie de factores que determinan la efectividad y el costo de la biorremediación, como las propiedades físicas y químicas del suelo, la cantidad de suelo a tratar, las características específicas de la contaminación y la degradabilidad del suelo y los organismos que se encuentran en el suelo. Existen algunas técnicas como: bioventeo, inyección de aire a presión, atenuación natural, bioestimulación (Suarez, 2013).

Por otra parte, la biorremediación “ex situ” es aquella que se lleva a cabo en un lugar distinto al cual se dio la contaminación; es decir, el sustrato contaminado es trasladado hacia otra zona, en la cual se brindará el tratamiento pertinente. Se divide en tres métodos: cultivo del suelo, biopilas y biorreactores. Tanto el cultivo del suelo como el biopiling son técnicas de bioreciclaje en fase sólida. La principal diferencia está en el sistema de aireación: la labranza trata la capa superior del suelo, mientras que los biopilas requieren una gran cantidad de material degradable. En el método del biorreactor, los contaminantes se extraen y transportan en contenedores especiales. La característica de este método es que el suelo contaminado se suspende en un ambiente acuoso y se trata en condiciones de saturación de agua (Suarez, 2013).

Así también, dentro de los procesos de biorremediación, se halla la fitorremediación, que consiste en el uso de especies vegetales para la eliminación de contaminantes en un suelo.

a. Fitorremediación

La fitorremediación es la aplicación de plantas para remover, reducir, degradar, transformar un contaminante en el suelo (Delgadillo et al., 2011). Como concepto también hace referencia a tecnologías mediante el uso de plantas para restaurar lugares o suelos contaminados. Proviene de dos palabras “fito” que su traducción es: planta o vegetal y “remediar” que significa: dar remedio al daño o corregir (Núñez et al., 2004).

Se trata de un conjunto de tecnologías que disminuyen la concentración de diversos compuestos, ya sea en el lugar mismo de la contaminación o fuera de él, mediante procesos bioquímicos llevados a cabo por plantas y microorganismos que están asociados a ellas. Esta estrategia representa una opción de remediación sostenible y de bajo costo, y se divide en dos categorías:

- En la planta: donde la planta absorbe el contaminante y lo incorpora en su interior.
- Fuera de la planta: donde la degradación tiene lugar en la región de interacción entre las raíces y los microorganismos presentes en el agua circundante.

La fitorremediación también es una estrategia perteneciente a la biorremediación que implica el empleo de plantas para eliminar contaminantes. Esta técnica se distingue por ser rentable, sencilla y ecológica, dado que no daña la estructura del suelo ni utiliza productos químicos. Su aplicación se basa en prácticas agronómicas convencionales que buscan optimizar las condiciones del suelo y su capacidad para cumplir sus funciones de manera eficaz. Este enfoque ofrece la ventaja de poder llevarse a cabo en el lugar mismo de la contaminación, donde contribuye positivamente a mejorar las propiedades físicas y químicas del suelo (López, 2022).

Esta técnica, por su parte abarca una diversidad de ventajas y desventajas, algunas de las principales se describen en la Tabla 1:

Tabla 1: Ventajas y desventajas de la fitorremediación

Ventajas	Desventajas
Demuestra eficacia en el tratamiento de una variedad de contaminantes directamente en el lugar afectado.	Puede ser un proceso de desarrollo lento, especialmente cuando se emplean especies vegetales de larga vida, como árboles o arbustos.
Puede ser empleada en entornos con concentraciones de contaminantes que van desde bajas hasta moderadas.	La eficacia podría estar influenciada por las estaciones del año.
No genera contaminantes secundarios, lo que elimina la necesidad de disponer de áreas específicas para su eliminación.	Existe la posibilidad de que los contaminantes almacenados en las hojas sean liberados nuevamente al ambiente durante el otoño, particularmente en el caso de especies vegetales perennes.
Es una tecnología de bajo costo y sustentable	No todas las plantas toleran o acumulan el contaminante

Fuente: (López, 2022; Núñez et al., 2004)

2.4 Fitorremediación con gramíneas

Las gramíneas, también conocidas como poaceas, son una de las familias más diversas, adaptadas a una diversidad de hábitats y condiciones geográficas. Generalmente se encuentran coexistiendo con otras especies pertenecientes a otras familias. Poseen un rol fundamental dentro de la historia de la humanidad gracias a la variedad de sus usos, tanto en alimentación, forraje, medicina, remediación y restauración. Suelen ser conocidas como especies pioneras dado que tienen la capacidad de instaurarse en hábitats con condiciones hostiles, mejoran las condiciones de la zona permitiendo la colonización de otras especies (Dávila et al., 1993). Dentro del ámbito de remediación y restauración, algunas especies pertenecientes a estas familias suelen ser utilizadas para la estabilización del suelo, reducción de la erosión, mejora de la infiltración del recurso hídrico y la obtención de nutrientes, además de proporcionar hábitat y alimento a otras especies (Sandoval, 2017). Además, las gramíneas destacan por su capacidad de formar micorrizas, que son la relación simbiótica entre plantas y hongos, permitiendo la mejora en la absorción de nutrientes, agua, estabilización del suelo, etc.

Algunos autores destacan el uso de gramíneas dentro de procesos de fitorremediación, entre ellos, Alonso et al. (2015), quienes utilizaron una especie de gramínea para remediar un suelo contaminado con 55000 y 65000ppm de aceite residual automotriz. Así mismo, Sangabriel et al. (2006), destacan el uso de especies pertenecientes a esta familia dentro del proceso de fitorremediación de un suelo contaminado por combustóleo.

2.4.1 Uso de la especie *Lolium perenne* para la fitorremediación de suelos

Esta especie pertenece a las gramíneas. Sus características incluyen principalmente plantas de naturaleza herbácea, que pueden ser anuales o perennes. Debido a su capacidad de adaptabilidad a diferentes entornos han sido ampliamente utilizadas dentro de procesos de fitorremediación de suelos contaminados por diferentes agentes, sean estos metales pesados, hidrocarburos, aceites, grasas y demás.

Entre algunas experiencias destacadas en el uso de esta especie para la fitorremediación, destacan las siguientes:

- Masu et al. (2018), con su trabajo "*Lolium Perenne* - A Phytoremediation Option in Case of Total Petroleum Hydrocarbons Polluted Soils", o en español "*Lolium Perenne* - Una Opción de Fitorremediación en el Caso de Hidrocarburos Totales de Petróleo Suelos Contaminados".
- Saldarriaga et al. (2023), con su investigación "Changes in *Lolium perenne* L. rhizosphere microbiome during phytoremediation of Cd- and Hg-contaminated soils", o en español "Cambios en el microbioma de la rizosfera *Lolium perenne* L. durante la fitorremediación de suelos contaminados con Cd y Hg".
- He et al. (2022), con su trabajo "Impact of soil types and root exudates on cadmium and petroleum hydrocarbon phytoremediation by *Sorghum sudanense*, *Festuca arundinace*, and *Lolium perenne*", o en español, "Impacto de los tipos de suelo y exudados de raíces en la fitorremediación de cadmio e hidrocarburos de petróleo por *Sorghum sudanense*, *Festuca arundinace* y *Lolium perenne*".
- Yuan et al. (2023), en su documento "Remediating petroleum hydrocarbons in highly saline–alkali soils using three native plant species", o en español, "Remediación de hidrocarburos de petróleo en suelos alcalinos altamente salinos utilizando tres especies de plantas nativas".

2.5 Fitorremediación con leguminosas

Las leguminosas, también llamadas Fabáceas, son una familia dentro de la cual se incluyen tanto: árboles, arbustos, hierbas, entre otras. Las diferentes especies dentro de esta familia del reino vegetal se encuentran distribuidas en todo el mundo y sus usos son diversos, tanto en la alimentación, en la salud, en la restauración ecosistémica y demás, ocupando el segundo lugar en importancia de plantas cultivadas. Se caracterizan principalmente por poseer un fruto conocido como legumbre dado que se encuentra conformado por una vaina que encierra las semillas. Además, destacan por su capacidad de fijar nitrógeno gracias a la relación simbiótica entre las raíces de estas plantas y ciertas bacterias del suelo. Son de suma importancia, gracias a que contribuyen a la fertilidad del suelo y reducen la necesidad del uso de fertilizantes (Foresto, 2021).

Han sido utilizadas dentro de procesos de restauración ecológica y fitorremediación, gracias a su capacidad de extracción de contaminantes como metales pesados y compuestos derivados de petróleo. Su uso es primordial puesto que permiten la estabilización de los suelos, la extracción de contaminantes, la fertilización y la mejora de las condiciones del medio, permitiendo que, posteriormente, otras especies puedan crecer (Noguez et al., 2017). Autores como Santoyo et al. (2019), revelan que el uso de una especie de leguminosa permitió la fitorremediación de suelos impactados por la presencia de aceite residual automotriz en una concentración de 85000ppm. Así también, Juárez et al. (2016), reportan el uso de una leguminosa para la remediación de un suelo contaminado con aceite automotriz en una concentración de 10000ppm.

2.5.1 Uso de la especie *Medicago sativa* para la fitorremediación de suelos

Medicago sativa es una especie forrajera que a través de los años ha logrado notarse su producción intensiva para el ganado vacuno y bovino, es rica en nutrientes esenciales para el desarrollo de los animales y resistente a la sequía durante el verano (Rebuffo, 2005). Con respecto a su uso para procesos de fitorremediación, es una excelente especie de planta con propiedades fitorremediadoras para suelos contaminados gracias a su rápido crecimiento y capacidad de capturar contaminantes (González et al., 2018).

Existen diversos antecedentes de su uso como especie fitorremediadora, entre algunas de las que destacan son las siguientes:

- Panchenko et al. (2023), en su artículo “Natural and Technical Phytoremediation of Oil-Contaminated Soil”, o en español, “Fitorremediación natural y técnica de suelos contaminados por petróleo”.
- Escobar et al. (2018), en su trabajo “Hydrocarbon Degradation and Lead Solubility in a Soil Polluted with Lead and Used Motor Oil Treated by Composting and Phytoremediation”, o en español, “Degradación de hidrocarburos y solubilidad de plomo en un suelo contaminado con plomo y aceite de motor usado tratado mediante compostaje y fitorremediación”.
- Glibovytska et al. (2019), en su documento “Prospects of Phytoremediation and Phytoindication of Oil-Contaminated Soils with the Help of Energy Plants”, o en español, “Perspectivas de fitorremediación y fitoasignación de suelos contaminados por petróleo con la ayuda de plantas energéticas”.
- Muratova et al. (2008), en su trabajo “Phytoremediation of Oil-Sludge–Contaminated Soil”, o en español, “Fitorremediación de suelos contaminados con lodos de petróleo”.

2.6 Técnicas de determinación de contaminantes en el suelo

2.6.1 Método Soxhlet

La determinación de contaminantes en el suelo puede realizarse mediante diversas técnicas, entre las cuales se incluye el método Soxhlet. Este es un método que realiza un equipo de vidrio llamado Soxhlet lo cual permite extraer compuestos o contaminantes a través de un solvente (Martínez et al., 2016).

Fue inventado en 1879 por Franz Von Soxhlet, originalmente fue diseñado para extraer un lípido de una muestra de material sólido. Posee un cilindro de vidrio, vertical y de altura de treinta centímetros aproximadamente, cuatro centímetros de diámetro (Saucedo et al., 2022; Balderas et al., 2015).

Un Soxhlet es un instrumento de laboratorio diseñado para la extracción de sustancias que tienen baja solubilidad en el solvente de extracción. En un extractor Soxhlet, la muestra se sumerge en un solvente caliente que se extrae periódicamente, se destila y se devuelve a la muestra. Durante cada ciclo, algunos compuestos no volátiles se disuelven en el solvente. Después de varios ciclos, el compuesto deseado se concentra en un matraz de destilación. Evaporar el solvente en el matraz y medir la masa de lípido restante (Caldas, 2012).

Ha sido un método utilizado ampliamente dentro de diversos trabajos para análisis de la concentración de contaminantes, gracias a su facilidad de uso y eficiencia al momento de obtener resultados. A continuación, se detallan algunos autores quienes han hecho uso de este método dentro de sus trabajos:

- Dominguez y Pichtel (2004), con su documento “Phytoremediation of Soil Contaminated with Used Motor Oil: II. Greenhouse Studies”, o en español, “Fitorremediación del suelo contaminado con aceite de motor usado: II. Estudios de invernadero”.
- Balderas et al. (2015), en su trabajo “Phytoremediation of soil contaminated with 35,000 ppm of waste motor oil”, o en español, “Fitorremediación de suelos contaminados con 35.000 ppm de aceite de motor usado”.
- Saucedo et al. (2022), en su artículo “Biorecovery of Agricultural Soil Impacted by Waste Motor Oil with *Phaseolus vulgaris* and *Xanthobacter autotrophicus*”, o en español, “Biorecuperación de suelo agrícola impactado por aceite de motor residual con *Phaseolus vulgaris* y *Xanthobacter autotrophicus*”.

2.7 Marco legal

2.7.1 Constitución del 2008

Art. 14.- Reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*: se declara de interés

público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Art. 71.- La naturaleza o Pacha Mama, donde se reproduce y realiza la vida, tiene derecho a que se respete integralmente su existencia y el mantenimiento y regeneración de sus ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos.

Toda persona, comunidad, pueblo o nacionalidad podrá exigir a la autoridad pública el cumplimiento de los derechos de la naturaleza. Para aplicar e interpretar estos derechos se observarán los principios establecidos en la Constitución, en lo que proceda. El Estado incentivará a las personas naturales y jurídicas, y a los colectivos, para que protejan la naturaleza, y promoverá el respeto a todos los elementos que forman un ecosistema.

Art. 72.- La naturaleza tiene derecho a la restauración. Esta restauración será independiente de la obligación que tienen el Estado y las personas naturales o jurídicas de indemnizar a los individuos y colectivos que dependan de los sistemas naturales afectados. En los casos de impacto ambiental grave o permanente, incluidos los ocasionados por la explotación de los recursos naturales no renovables, el Estado establecerá los mecanismos más eficaces para alcanzar la restauración, y adoptará las medidas adecuadas para eliminar o mitigar las consecuencias ambientales nocivas.

Art. 73.- El Estado aplicará medidas de precaución y restricción para las actividades que puedan conducir a la extinción de especies, la destrucción de ecosistemas o la alteración permanente de los ciclos naturales. Se prohíbe la introducción de organismos y material orgánico e inorgánico que puedan alterar de manera definitiva el patrimonio genético nacional.

Art. 74.- Las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades tendrán derecho a beneficiarse del ambiente y de las riquezas naturales que les permitan el buen vivir. Los servicios ambientales no serán susceptibles de apropiación; su producción, prestación, uso y aprovechamiento serán regulados por el Estado.

2.7.2 Código orgánico del ambiente

Art. 2.- Ambito de aplicación. Las normas contenidas en este Código, así como las reglamentarias y demás disposiciones técnicas vinculadas a esta materia, son de cumplimiento obligatorio para todas las entidades, organismos y dependencias que comprenden el sector público, personas naturales y jurídicas, comunas, comunidades, pueblos, nacionalidades y colectivos, que se encuentren permanente o temporalmente en el territorio nacional. La regulación del aprovechamiento de los recursos naturales no renovables y de todas las actividades productivas

que se rigen por sus respectivas leyes, deberán observar y cumplir con las disposiciones del presente Código en lo que respecta a la gestión ambiental de las mismas.

Art. 3.- Fines. Son fines de este Código:

1. Regular los derechos, garantías y principios relacionados con el ambiente sano y la naturaleza, previstos en la Constitución y los instrumentos internacionales ratificados por el Estado;
2. Establecer los principios y lineamientos ambientales que orienten las políticas públicas del Estado. La política nacional ambiental deberá estar incorporada obligatoriamente en los instrumentos y procesos de planificación, decisión y ejecución, a cargo de los organismos y entidades del sector público;
3. Establecer los instrumentos fundamentales del Sistema Nacional Descentralizado de Gestión Ambiental y la corresponsabilidad de la ciudadanía en su aplicación;
4. Establecer, implementar e incentivar los mecanismos e instrumentos para la conservación, uso sostenible y restauración de los ecosistemas, biodiversidad y sus componentes, patrimonio genético, Patrimonio Forestal Nacional, servicios ambientales, zona marino costera y recursos naturales;
5. Regular las actividades que generen impacto y daño ambiental, a través de normas y parámetros que promuevan el respeto a la naturaleza, a la diversidad cultural, así como a los derechos de las generaciones presentes y futuras;
6. Regular y promover el bienestar y la protección animal, así como el manejo y gestión responsable del arbolado urbano;
7. Prevenir, minimizar, evitar y controlar los impactos ambientales, así como establecer las medidas de reparación y restauración de los espacios naturales degradados;
8. Garantizar la participación de las personas de manera equitativa en la conservación, protección, restauración y reparación integral de la naturaleza, así como en la generación de sus beneficios;
9. Establecer los mecanismos que promuevan y fomenten la generación de información ambiental, así como la articulación y coordinación de las entidades públicas, privadas y de la sociedad civil responsables de realizar actividades de gestión e investigación ambiental, de conformidad con los requerimientos y prioridades estatales;
10. Establecer medidas eficaces, eficientes y transversales para enfrentar los efectos del cambio climático a través de acciones de mitigación y adaptación; y,

11. Determinar las atribuciones de la Autoridad Ambiental Nacional como entidad rectora de la política ambiental nacional, las competencias ambientales de los Gobiernos Autónomos Descentralizados y la implementación del Sistema Nacional Descentralizado de Gestión Ambiental.

Art. 85.- De la regulación de las actividades de conservación, manejo y restauración para la generación de servicios ambientales. Los servicios ambientales no son susceptibles de apropiación. Quienes por su acción u omisión permiten la conservación, manejo sostenible y restauración de los ecosistemas y con ello contribuyan con el mantenimiento de su función ecológica, su resiliencia y por ende el flujo de los servicios ambientales, podrán ser retribuidos, de conformidad con los lineamientos que dicte la Autoridad Ambiental Nacional. En las actividades de conservación, manejo y restauración para la generación de servicios ambientales existirá el prestador y beneficiario. La Autoridad Ambiental Nacional garantizará que todas estas actividades se realicen en términos justos, equitativos y transparentes considerando las formas asociativas de economía popular y solidaria. Se desarrollarán incentivos para promover las iniciativas de investigación, desarrollo e innovación para la conservación, uso y manejo de los servicios ambientales.

Art. 292.- Medidas de prevención y reparación integral de los daños ambientales. Ante la amenaza inminente de daños ambientales, el operador de proyectos, obras o actividades deberá adoptar de forma inmediata las medidas que prevengan y eviten la ocurrencia de dichos daños. Cuando los daños ambientales hayan ocurrido, el operador responsable deberá adoptar sin demora y sin necesidad de advertencia, requerimiento o de acto administrativo previo, las siguientes medidas en este orden: 1. Contingencia, mitigación y corrección; 2. Remediación y restauración; 3. Compensación e indemnización; y, 4. Seguimiento y evaluación. Los operadores estarán obligados a cumplir con la reparación, en atención a la presente jerarquía, con el fin de garantizar la eliminación de riesgos para la salud humana y la protección de los derechos de la naturaleza. Cuando se realice la reparación ambiental, se procurará llegar al estado anterior a la afectación del proyecto, obra o actividad. Si por la magnitud del daño y después de la aplicación de las medidas, eso no fuera posible, se procederá con las medidas compensatorias e indemnizatorias. Cuando se realicen indemnizaciones o compensaciones por daños ambientales en áreas de propiedad estatal, estas se canalizarán a través de la Autoridad Ambiental Nacional o Autoridad Ambiental Competente, según corresponda.

Art. 293.- Medidas para evitar nuevos daños ambientales. Para evitar la ocurrencia de nuevos daños ambientales, se deberá tomar en consideración lo siguiente: 1. El operador de la actividad garantizará la implementación inmediata y oportuna de medidas que eviten y detengan la expansión del daño producido, así como la ocurrencia de nuevos daños; y, 2. El operador pondrá en conocimiento inmediato de la Autoridad Ambiental Competente la ejecución de actividades que prevengan o eviten la expansión del daño producido o la ocurrencia de nuevos daños. Lo mismo hará, en el caso de que no desaparezca la amenaza de daño ambiental, a pesar de haberse adoptado dichas medidas. La Autoridad Ambiental Nacional determinará los lineamientos y criterios

sobre la implementación de las medidas y obligaciones destinadas a evitar la ocurrencia de nuevos daños ambientales a los ya producidos.

Art. 290.- Atribución de responsabilidad por la generación de daños ambientales. Para establecer la responsabilidad por daños ambientales se deberá identificar al operador de la actividad económica o de cualquier actividad en general que ocasionó los daños. Las reglas de la atribución de responsabilidad serán: 1. Si una persona jurídica forma parte de un grupo de sociedades, la responsabilidad ambiental podrá extenderse a la sociedad que tiene la capacidad de tomar decisiones sobre las otras empresas del grupo; o cuando se cometan a nombre de las sociedades fraudes y abusos a la ley. 2. Será responsable toda persona natural o jurídica que, en virtud de cualquier título, se encargue o sea responsable del control de la actividad. Los administradores o representantes legales de las compañías serán responsables solidarios de obligaciones pendientes establecidas por daños ambientales generados durante su gestión. 3. Si existe una pluralidad de causantes de un mismo daño ambiental, la responsabilidad será solidaria entre quienes lo ocasionen; 4. En los casos de muerte de la persona natural responsable de ocasionar los daños ambientales, sus obligaciones económicas o pecuniarias pendientes se transmitirán de conformidad con la ley; y, 5. Cuando se produzca la extinción de la persona jurídica responsable de ocasionar los daños ambientales, sus obligaciones económicas o pecuniarias pendientes serán asumidas por los socios o accionistas, de conformidad con la ley.

2.7.3 Ley de gestión ambiental

Art. 1.- La presente Ley establece los principios y directrices de política ambiental; determina las obligaciones, responsabilidades, niveles de participación de los sectores público y privado en la gestión ambiental y señala los límites permisibles, controles y sanciones en esta materia.

Art. 2.- La gestión ambiental se sujeta a los principios de solidaridad, corresponsabilidad, cooperación, coordinación, reciclaje y reutilización de desechos, utilización de tecnologías alternativas ambientalmente sustentables y respecto a las culturas y prácticas tradicionales.

Art. 3.- El proceso de Gestión Ambiental, se orientará según los principios universales del Desarrollo Sustentable, contenidos en la Declaración de Río de Janeiro de 1992, sobre Medio Ambiente y Desarrollo.

Art. 4.- Los reglamentos, instructivos, regulaciones y ordenanzas que, dentro del ámbito de su competencia, expidan las instituciones del Estado en materia ambiental, deberán observar las siguientes etapas, según corresponda: desarrollo de estudios técnicos sectoriales, económicos, de relaciones comunitarias, de capacidad institucional y consultas a organismos competentes e información a los sectores ciudadanos.

Art. 5.- Se establece el Sistema Descentralizado de Gestión Ambiental como un mecanismo de coordinación transectorial, interacción y cooperación entre los distintos ámbitos, sistemas y subsistemas de manejo ambiental y de gestión de recursos naturales.

2.7.4 Acuerdo Ministerial 097-A, Anexos de Normativa, REFORMA LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE

4.7.1.1 En el caso de determinarse la contaminación del suelo, el sujeto de control pondrá en ejecución las medidas establecidas en el programa de remediación aprobado por la Autoridad Ambiental Competente de acuerdo a lo establecido en el numeral 4.3.1.5 de la presente norma y/o la normativa sectorial en el caso de que aplique, dentro de los plazos y condiciones señaladas para su adopción y ejecución. El plazo dependerá de la situación, y será definido por la Autoridad Ambiental Competente.

4.7.1.2 La remediación del suelo se ejecutará utilizando la mejor tecnología disponible, atendiendo a las características propias de cada caso, buscando soluciones que garanticen la recuperación y el mantenimiento permanente de la calidad del suelo.

Tabla 2: Criterios de remediación (Valores máximos permisibles)

Parámetro	Unidades	Valor
Conductividad	µS/cm	200
pH	-	6 a 8
Aceites y grasas	mg/kg	<4000
Hidrocarburos totales de petróleo (TPH)	mg/kg	<150

Fuente: Acuerdo ministerial 097-A, 2015

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación tuvo como fin principal llevar a cabo una evaluación del proceso de fitorremediación de suelos contaminados con aceites y lubricantes residuales automotrices, mediante el uso de dos especies vegetales diferentes: *Lolium perenne* y *Medicago sativa* como una alternativa para la recuperación de suelos degradados. A través de esto, se pudo identificar cuál de estas dos especies escogidas para la experimentación es más eficiente al momento de remediar suelos contaminados. Aunque ya existen diversas investigaciones sobre el uso de las especies vegetales mencionadas en fitorremediación, aún hay ciertas falencias en cuanto a su capacidad para remediar suelos contaminados con derivados de hidrocarburos.

Martínez et al., (2016), por ejemplo, mencionan que las especies *Lolium perenne* y *Medicago sativa* han sido utilizadas para la remoción de HTP. Otros autores, por su parte, destacan específicamente el uso de *Lolium perenne* como un tratamiento eficiente para la restauración de suelos contaminados con hidrocarburos y sus derivados (Cubillos et al., 2014; Masu et al., 2018; Mendarte et al., 2021; Zhang et al., 2012). Así también, la especie *Medicago sativa* ha sido utilizada en diversos procesos de fitorremediación de suelos contaminados con diferentes agentes, entre estos, los hidrocarburos (Soto, 2022; Kathi y Khan, 2011). Si bien, existen diversos estudios en los cuales se evalúa la capacidad de estas plantas para la restauración de suelos contaminados, poco se ha estudiado, específicamente, en cuanto a la fitorremediación de suelos que han sido contaminados con aceites provenientes de automóviles, siendo que la contaminación por estos es un problema recurrente, principalmente en mecánicas automotrices y otros establecimientos que manejan estos compuestos. Con base en esto, y considerando que los aceites de automóviles son compuestos derivados de hidrocarburos, se buscó contribuir al conocimiento de las capacidades que poseen estas especies vegetales como alternativa de restauración.

Para llevar a cabo el presente proyecto, se adoptó una metodología de tipo cuantitativa, descriptiva y experimental, empleando técnicas y herramientas adecuadas para abordar los objetivos planteados, basándose en la literatura existente. La elección de la metodología se justificó por la relevancia del tema, las limitaciones del alcance y el tiempo disponible, así como por la conveniencia de aplicar los métodos seleccionados en el contexto de la investigación. De manera general, lo que se realizó fue simular un escenario de suelo contaminado partiendo de una concentración inicial de contaminante (aceite automotriz) de 5000ppm, para distribuir el suelo contaminado en macetas, en donde, cada una de ellas, representan un tipo de tratamiento, con repeticiones y la aplicación de las especies vegetales en diferentes densidades para evaluar el mejor tratamiento. El tiempo de experimentación fue de dos meses, en los cuales se realizó un seguimiento a la germinación y crecimiento de las plantas, así como también, a la concentración del contaminante en el suelo.

3.1 Materiales

Para llevar a cabo el presente proyecto de investigación, se hizo uso de diferentes materiales y equipos que permitieron un desarrollo adecuado de la experimentación, todos estos se enlistan a continuación:

- Suelo (15 kg)
- Aceite automotor obtenido de una mecánica
- Macetas (15)
- Semillas de *Medicago sativa* y *Lolium perenne*
- Báscula o balanza
- Cápsulas de porcelana
- Probeta
- Erlenmeyer
- Vaso de precipitación
- Mechero
- Cajas Petri
- Portaobjetos y cubre objetos
- Tamiz
- Mortero
- Multiparamétrico
- Papel filtro
- Espátula
- Vaso de precipitación
- Pipeta
- Alcohol metílico
- Agua destilada
- Microscopio
- Soxhlet
- Mufla
- Desecador
- Horno

- Incubadora
- Medios de cultivo para hongos y bacterias (agar dextrosa y agar nutritivo, respectivamente)

3.2 Metodología

Para llevar a cabo la experimentación, se tomaron como referencia varios aspectos descritos en trabajos previos que abordaban procesos de fitorremediación, incluyendo las especies vegetales empleadas, la duración del experimento, la concentración del contaminante, entre otros. El objetivo fue simular un escenario real al verter una cantidad conocida de contaminante, en este caso, aceite automotriz, sobre una muestra de suelo sin contaminar, comenzando con una concentración inicial de 50000 ppm. Luego, se aplicaron diversos tratamientos para evaluar el potencial de fitorremediación. Es importante destacar que la fitorremediación aplicada para este caso fue ex situ.

La selección de las especies utilizadas se fundamentó en diversos trabajos realizados previamente con respecto al uso de estas en procesos de fitorremediación de suelos contaminados con agentes como derivados de petróleo, hidrocarburos de distinto tipo, metales pesados, entre otros. Entre algunos de estos se mencionan Masu et al. (2018), quienes aplicaron tratamientos de fitorremediación para suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo mediante el uso de *Lolium perenne*; Saldarriaga et al. (2023), quienes utilizaron la misma especie vegetal para fitorremediar suelos contaminados con metales pesados. Otros autores como Escobar et al. (2018), quienes aplicaron *Medicago sativa* para fitorremediar suelos contaminados con hidrocarburos; Glibovytska et al. (2019), que por su parte emplearon la especie mencionada para tratar suelos contaminados con aceites. Incluso Muratova et al. (2008), que utilizaron las dos especies, *Medicago sativa* y *Lolium perenne* para fitorremediar suelos contaminados con lodos de petróleo. Con estos antecedentes, se buscó probar la eficiencia de fitorremediación de estas dos especies para un suelo contaminado con aceite residual automotriz bajo una misma concentración de contaminante.

La elección de iniciar con una concentración de 50000 ppm se basó en investigaciones previas realizadas por distintos autores, quienes también han desarrollado sus trabajos con concentraciones cercanas a la seleccionada. Por ejemplo, Balderas et al. (2015), quienes inician su proceso experimental con 35000 ppm de aceite residual automotriz. Así también, Saucedo et al. (2022), quienes parten de una concentración de 60000ppm del mismo tipo de contaminante.

En base a lo descrito, considerando que cada maceta o unidad experimental abarca un peso de 1 kg de suelo, y que la experimentación se conforma de un total de 15 unidades experimentales, se partió tomando una muestra de aproximadamente 16kg de suelo, de los cuales, 15kg se destinaron al proceso de siembra y el remanente se utilizó para realizar una caracterización inicial del suelo.

3.2.1 Caracterización inicial del suelo

La caracterización se basó en el conocimiento de propiedades básicas del suelo con el que se trabajó, lo que facilitó la comprensión de su naturaleza y la influencia de ciertos parámetros en el proceso de fitorremediación. Se analizaron diversas características, incluyendo pH, densidad real, densidad aparente, humedad, textura, contenido de materia orgánica, conductividad, y la presencia de microorganismos (hongos y bacterias). Autores como Escobar et al. (2018), Agamuthu et al. (2010), Saucedo et al. (2022), y Balderas et al. (2015), sugieren que la caracterización inicial del suelo es fundamental gracias a que permite conocer el estado del suelo y cómo ciertas características pueden influenciar en el proceso de fitorremediación.

A continuación, se describen los pasos que se siguieron para llevar a cabo la metodología.

- Determinación del pH

Inicialmente, se determinó el pH de la muestra de suelo utilizando un pH-metro especializado para suelo, que se inserta en la muestra para obtener su valor.

- Conductividad

Para determinar la conductividad, dado que no se disponía de los equipos necesarios, se empleó un procedimiento alternativo. Además, es importante mencionar que se determinó la conductividad tanto para una muestra de suelo contaminado, como de suelo sin contaminar. Como primer punto, en un vaso precipitación se colocó una muestra de 4 gramos de suelo seco contaminado y se adicionó 26 ml de agua destilada. Se procedió a mezclar mediante una varilla y se dejó reposar por un lapso de 30 minutos. Luego de transcurrido el tiempo, se determinó su valor mediante un multiparamétrico. El mismo procedimiento fue desarrollado para el caso del suelo sin contaminar.

- Densidad real

Para el cálculo la densidad real, se utilizó un picnómetro. En primera instancia, se pesó el picnómetro para poder desarrollar la determinación del parámetro especificado. Posterior a ello, se procedió a tomar una muestra de 5 gramos de suelo seco y tamizado, y se colocó en el picnómetro. A continuación, se registró el peso del picnómetro más la muestra de suelo. Hecho esto, se agregó agua destilada al picnómetro de poco a poco hasta llegar a la marca superior, y se colocó el tapón procurando no dejar burbujas. Se registra nuevamente el peso.

Con estos datos, se procede a calcular la densidad real por medio de las siguientes relaciones (Campos, 2012):

$$densidad_{real} = \frac{masa_{sólido}}{volumen_{sólido}}$$
$$volumen_{sólido} = volumen_{picnómetro} - volumen_{agua}$$

$$volumen_{agua} = \frac{masa_{agua}}{densidad_{agua}}$$

$$masa_{agua} = masa_{picnómetro\ lleno} - (masa_{suelo} + masa_{picnómetro\ vacío})$$

- Densidad aparente

En el caso de la densidad aparente, el proceso aplicado para su determinación fue mediante el uso de una probeta, más agua destilada y una cantidad conocida de suelo. El volumen de agua utilizado fue de 70ml, que fue depositado en una probeta. A esto, se le adicionó 5 gramos de suelo seco y se identificó el volumen final. Por lo tanto, el volumen final del suelo será el resultante de la resta entre el volumen final, menos el volumen del agua.

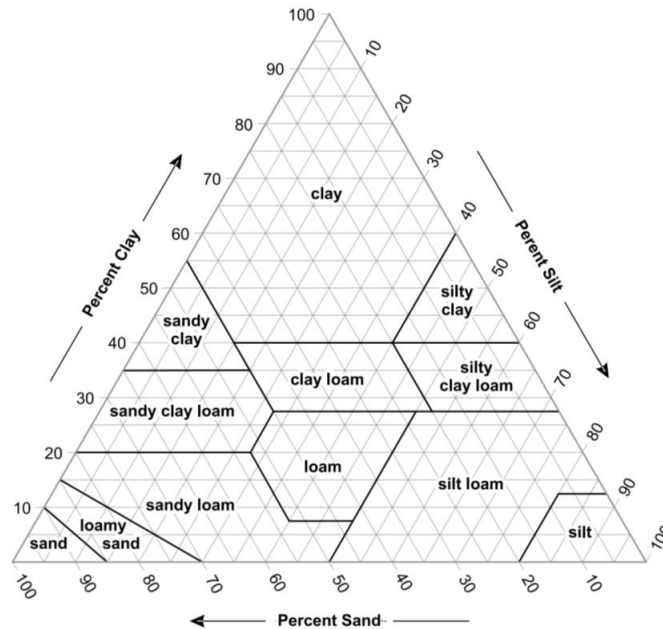
Sabiendo que la densidad es la relación entre la masa y el volumen, se aplicó la siguiente fórmula (Campos, 2012):

$$densidad_{aparente} = \frac{masa_{sólido}}{volumen_{sólido}}$$

- Textura del suelo

Para determinar la textura del suelo lo que se realizó fue tomar una muestra de 100 gramos de suelo y colocarla en un set de tamices que constaban de: un tamiz de 30, uno de 50, uno de 200, más la base y su respectiva tapa. Este set de tamices fue llevado a la tamizadora por 180 segundos. Posterior a ello, se registra el peso de la cantidad de suelo en cada uno de ellos, considerando que la cantidad de muestra que queda en el tamiz de 50 es arena, lo que queda en el tamiz de 200 es limo y lo que resta en la base es arcilla. Determinando el porcentaje de cada uno de ellos, se determinó la textura de suelo, mediante su determinación por medio de la Ilustración 1.

Ilustración 1: Triángulo textural (USDA)



Fuente: United States Department of Agriculture, 2018

- Humedad del suelo

Para determinar la humedad del suelo, se partió registrando el peso de una cápsula en la cual, luego, se depositó una cantidad conocida de suelo. La cápsula más el suelo, se llevaron a un horno a 105°C, luego del cual, fueron llevadas al desecador. Este proceso se repitió hasta obtener un peso constante. Posterior a ello, se procedió a pesar nuevamente el suelo seco. La humedad se determinó a partir de las siguientes relaciones (Campos, 2012):

$$\text{Humedad} = \text{Suelo húmedo inicial} - \text{Suelo seco}$$

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{\text{Humedad} * 100}{\text{Suelo húmedo inicial}}$$

- Contenido de materia orgánica

Para determinar el contenido de materia orgánica, se pesaron 5 gramos de suelo seco al aire. Luego, se colocaron en una cápsula de porcelana y se llevaron a la estufa a 105 °C durante 8 horas. Después de enfriar, se pesó nuevamente el suelo y la cápsula. Posteriormente, la muestra se sometió a una mufla a 600 °C durante una hora para eliminar la materia orgánica por calcinación. Finalmente, se registró el peso y se calculó el porcentaje de materia orgánica mediante la fórmula (Campos, 2012):

$$(A - C) - (B - C)$$

En donde: A = peso de la cápsula más el suelo; B = peso de la cápsula más el suelo, luego de pasar por la mufla o estufa; y C = al peso de la cápsula desocupada.

- Presencia de microorganismos (hongos y bacterias)

Considerando que, una parte importante dentro del proceso de fitorremediación es la presencia de ciertos microorganismos, fue imprescindible realizar un análisis general de su presencia dentro de la muestra de suelo. Para ello, se preparó el medio de cultivo, para lo cual se colocó 60ml de agua destilada en un Erlenmeyer y se mezcló con 1,38 gramos de agar nutritivo. Esta mezcla fue calentada hasta llegar a su punto de ebullición, siendo luego esterilizada por 40 minutos a 121°C. En una caja Petri se vertió 10ml del medio de cultivo y se deja reposar hasta que solidifique. Habiendo transcurrido el tiempo mencionado, se realiza la siembra. Para ello, se diluyó 1 gramo de suelo en 15 ml de agua destilada y, mediante un asa de siembra previamente esterilizada se toma parte de la disolución y se siembra en el medio de cultivo. Posterior a ello, se cubre la caja Petri y se deja reposar por 24 horas.

Para el caso de la determinación de la presencia de hongos, el proceso realizado es similar. Se prepara el medio de cultivo, en este caso, agar dextrosa para lo cual, 3,9 gramos de agar se diluyen en 60ml de agua destilada. En un Erlenmeyer se deja hervir la disolución hasta su punto de ebullición y se esteriliza por 40 minutos a 121°C. Luego de ello, de la misma manera que en el caso anterior, se realiza la siembra. Se deja reposar por aproximadamente 3 días y se evalúa la presencia de hongos.

Finalmente, con los valores iniciales de la caracterización obtenidos y estableciendo una línea base, se procedió con la siguiente fase de la experimentación.

3.2.2 Contaminación del suelo con aceite automotriz para simular un escenario real

La concentración inicial fue de 500000 ppm, por lo cual, para determinar la cantidad requerida de contaminante, se desarrollaron algunos cálculos en función de su densidad y de otras características del suelo, como su humedad.

En base a esto, la concentración de 50000 ppm indica que, por cada kilogramo de suelo seco, se requiere verter 50000 miligramos de contaminante. Sin embargo, los 15kg de suelo que se emplearon para la experimentación, no son suelo seco, sino que contienen un porcentaje de humedad. Entonces, para determinar la cantidad de suelo seco que se ocupará, se requirió, mediante una regla de 3, extraer el porcentaje de humedad del mismo, el cual fue obtenido previamente con un valor de 29,38%. Este porcentaje, representa un total de 4,407kg, por lo cual,

al restar este valor de los 15kg de suelo, se obtuvo que 10,593kg es el total de suelo seco con el cual se trabajó.

A partir de ello, se procedió a determinar la cantidad necesaria de contaminante. Entonces, si se conoce que para contaminar 1kg de suelo seco, se requiere de 50000mg de aceite automotriz (50g), lo que hace falta es calcular el volumen, el cual se obtiene mediante el cálculo de la densidad del contaminante. Para ello, se utilizó un picnómetro, y cuyo valor fue de 0,913g/ml. Al dividir la masa requerida del contaminante (50g) para la densidad del mismo, se obtiene el volumen de aceite requerido para contaminar 1kg de suelo seco, cuyo resultante fue de 54,76ml. Si multiplicamos este valor, por la cantidad total de suelo seco que se utilizó, se obtiene un valor de 580,07ml de aceite total requerido.

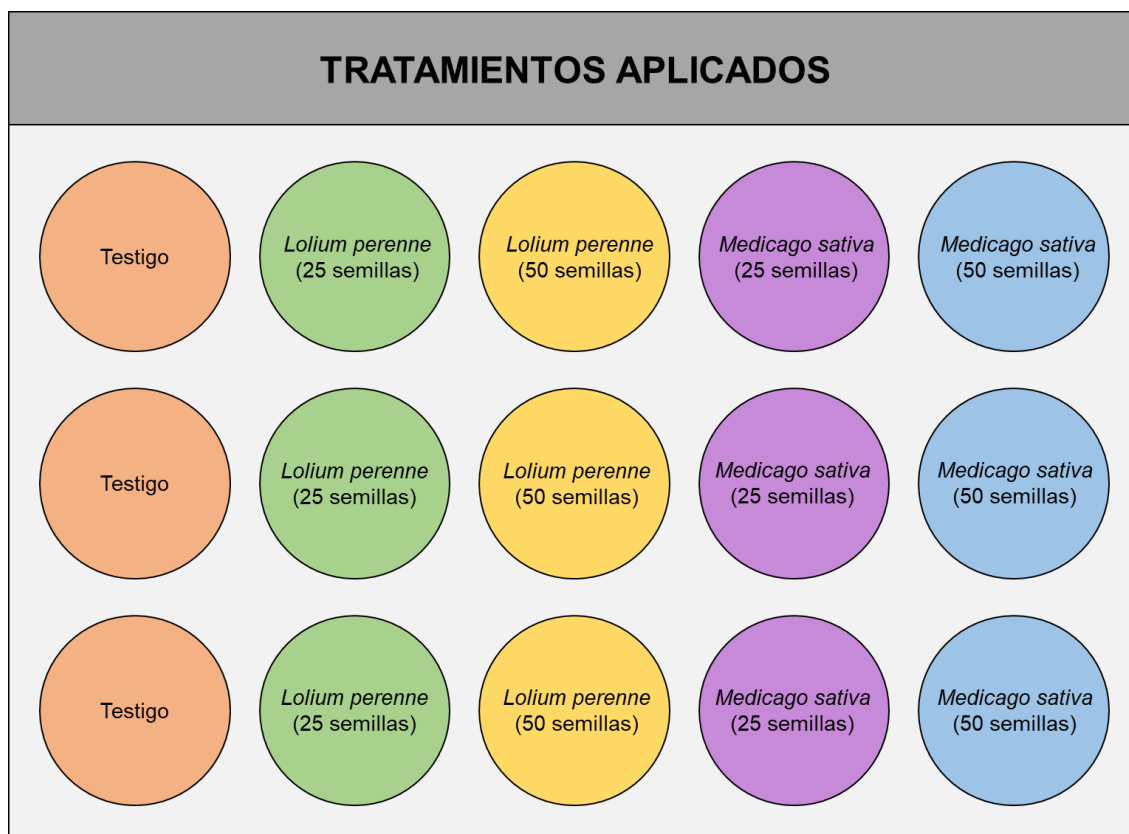
Habiendo calculado esto, se procedió a verter el contaminante en la cantidad total de suelo y se realizó un proceso de homogeneización de la mezcla; posteriormente, se colocó 1kg en cada una de las macetas.

a. Diseño experimental

En la presente investigación, el diseño experimental fue de medidas repetidas con grupos equivalentes y control de grupo testigo. Las medidas repetidas hacen referencia a los análisis periódicos realizados cada 15 días para verificar la concentración del contaminante en cada unidad experimental; los grupos equivalentes se constituyen por cada uno de los tratamientos conformados por las 3 unidades experimentales, es decir, las macetas; finalmente, el control de grupo testigo implica la presencia de unidades experimentales a las cuales no se aplicó ningún tratamiento pero fueron utilizadas como la base para verificar las variaciones en cada tratamiento.

El diseño experimental estuvo constituido por cinco tratamientos, con 3 repeticiones o unidades experimentales en cada uno; el primer tratamiento o también denominado testigo, y cuatro tratamientos con suelo contaminado y la siembra de las especies vegetales en diferentes densidades. Se adoptó y adaptó este diseño, fundamentado en diversos trabajos realizados de fitorremediación ex situ, como los desarrollados por Munive et al. (2018), y González et al. (2018); en donde, se llevaron a cabo diversos tratamientos con diferentes especies vegetales, y para cada tratamiento se realizan 3 repeticiones. La ilustración 2, a continuación, muestra cómo se constituyó cada tratamiento.

Ilustración 2: Tratamientos aplicados



El primer tratamiento, o también llamado testigo se constituyó por suelo contaminado sin la siembra de ninguna especie vegetal. El segundo tratamiento consistió en el suelo contaminado más la siembra de 25 semillas de *Lolium perenne* en cada unidad experimental. El tercer tratamiento fue el suelo contaminado más la siembra de 50 semillas de *Lolium perenne* por maceta. El cuarto tratamiento consistió en la siembra en el suelo contaminado de 25 semillas de la especie *Medicago sativa*. Finalmente, el último tratamiento fue la siembra en suelo contaminado de 50 semillas de *Medicago sativa* en cada unidad experimental. Cada maceta o unidad experimental se conformó por 1kg de suelo más el tratamiento correspondiente.

El tiempo de experimentación fue de dos meses, iniciando el 20 de octubre de 2023 y culminando el 20 de diciembre de 2023.

3.2.3 Determinación de la eficiencia de cada tratamiento

Para poder evaluar la eficiencia de cada uno de los tratamientos, se realizó el análisis de la concentración del contaminante, mediante el uso del equipo Soxhlet, (método gravimétrico). Los

análisis se llevaron a cabo al inicio de la experimentación y luego cada 15 días desde la fecha de siembra, evaluando la concentración del contaminante en cada uno de los tratamientos con la finalidad de determinar cómo se degrada el contaminante, la acción de las especies vegetales y la variabilidad de las mismas en función de las diferentes densidades empleadas.

Para determinar la concentración del contaminante en cada análisis quincenal, se tomó una muestra compuesta de suelo de aproximadamente 11 gramos en total de cada tratamiento. Se registró su peso exacto y luego se determinó la humedad de cada una de ellas. Hecho esto, se llevó cada muestra a un filtro, los cuales son colocados en el equipo Soxhlet. En este, por medio del uso de alcohol etílico se realizó un proceso de lavado de suelo por aproximadamente 3 horas a 110°C. Culminado este tiempo, se secó nuevamente las muestras en un horno a 105°C por 15 minutos y se registró el peso final. La cantidad de contaminante presente se calcula mediante la resta entre el suelo seco inicial y el suelo seco luego del lavado en el equipo Soxhlet.

Es importante mencionar que la medición fue realizada cada 15 días para cada uno de los tratamientos, excepto para el testigo, el cual solo se determinó al final de la experimentación con el propósito de comparar su porcentaje final de reducción de contaminante.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Habiendo culminado con el proceso de experimentación, se presentan los resultados de acuerdo a lo planteado. Los resultados que se detallan son de suma importancia dentro del ámbito de remediación dado que cimienta bases para nuevas investigaciones y expone la eficiencia de diferentes alternativas para la recuperación de suelos que han sido degradados como consecuencia del vertido de contaminantes. Como primer punto, se detallan los valores obtenidos en cuanto a la caracterización inicial del suelo que representan la base fundamental para el desarrollo de la investigación. Posterior a ello, se exponen los resultados obtenidos durante el proceso de experimentación luego de la siembra de las especies vegetales. Finalmente, como último punto, se describe cuál tratamiento fue el más óptimo en el proceso de remediación y el uso que se puede dar bajo un escenario real a partir de una simulación realizada en laboratorio.

4.1 Resultados y análisis

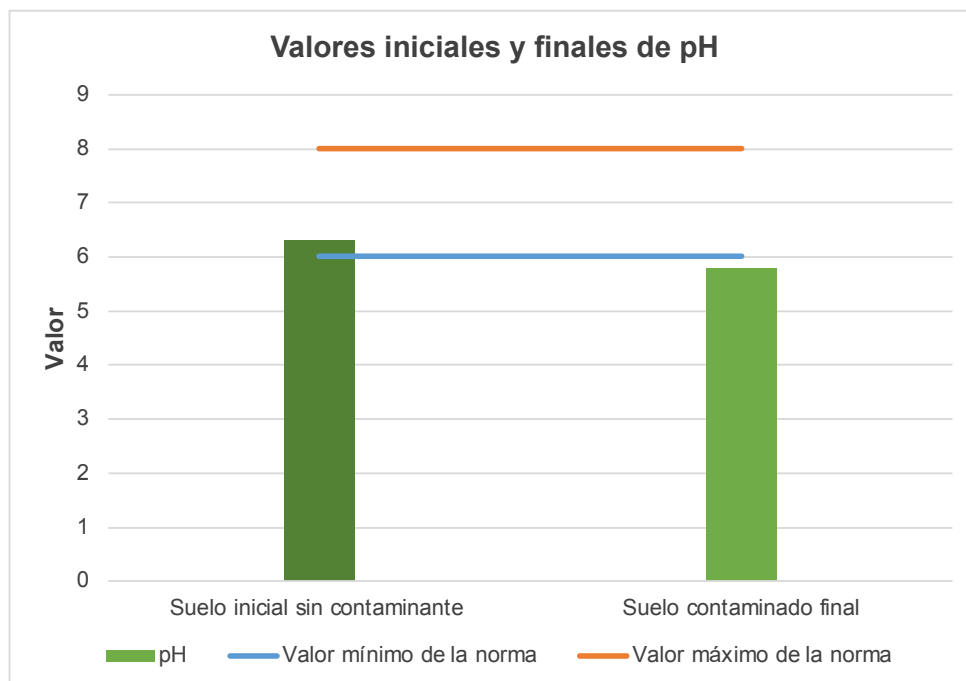
4.1.1 Resultados y análisis de la caracterización inicial del suelo

A continuación, se exponen los resultados obtenidos para cada una de las características analizadas del suelo utilizado para la experimentación, mismas que son fundamentales, dado que todas estas pueden tener incidencia en los resultados del proceso de fitorremediación.

- pH

El valor de pH obtenido mediante el uso del pH-metro del suelo para la muestra de suelo inicial sin contaminante fue de 6,3. Por otra parte, el valor del pH del suelo al final de la experimentación fue de 5,8; por debajo del valor de la normativa, esto quiere decir que la presencia del contaminante en el suelo, ocasionó que el suelo se vuelva más ácido en relación a los valores iniciales.

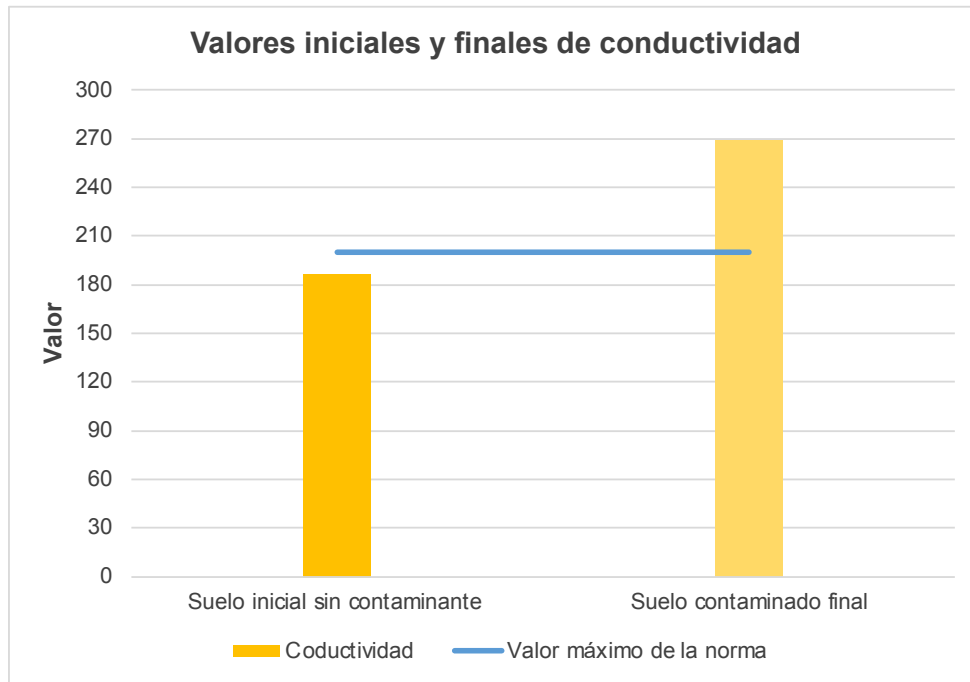
Ilustración 3: Valores de pH al inicio y final de la experimentación



- Conductividad

Con respecto a la conductividad, su valor, mediante el método indirecto empleado para su determinación fue de 186,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$, para el caso del suelo inicial sin la presencia del contaminante. Mientras que, para el caso del suelo contaminado final fue de 269 $\mu\text{S}/\text{cm}$, excediendo el límite permisible establecido en la normativa. Esto puede indicar que el contaminante estaba compuesto de ciertos elementos como metales que ocasionen el incremento del valor de la conductividad en el suelo.

Ilustración 4: Valores de conductividad al inicio y final de la experimentación



- Densidad real

El valor de la densidad real se obtuvo a partir de las relaciones descritas en la metodología, en donde:

$$masa_{agua} = 50,768g - (2,025g + 25,273g)$$

$$masa_{agua} = 23,47g$$

$$volumen_{agua} = \frac{23,47g}{1g/ml}$$

$$volumen_{agua} = 23,47ml$$

$$volumen_{sólido} = 50ml - 23,47ml$$

$$volumen_{sólido} = 26,53ml$$

$$densidad_{real} = \frac{2,025g}{26,53ml}$$

$$densidad_{real} = 0,076 g/ml$$

- Densidad aparente

El método empleado para el cálculo de la densidad aparente se detalla en el apartado anterior. A partir de ello se obtuvo que:

$$volumen_{agua\ en\ probeta} = 70ml$$

$$masa_{suelo} = 5g$$

$$volumen_{agua+suelo} = 74ml$$

$$volumen_{suelo} = 4ml$$

$$densidad_{aparente} = 1,25 \text{ g/ml}$$

- Textura del suelo

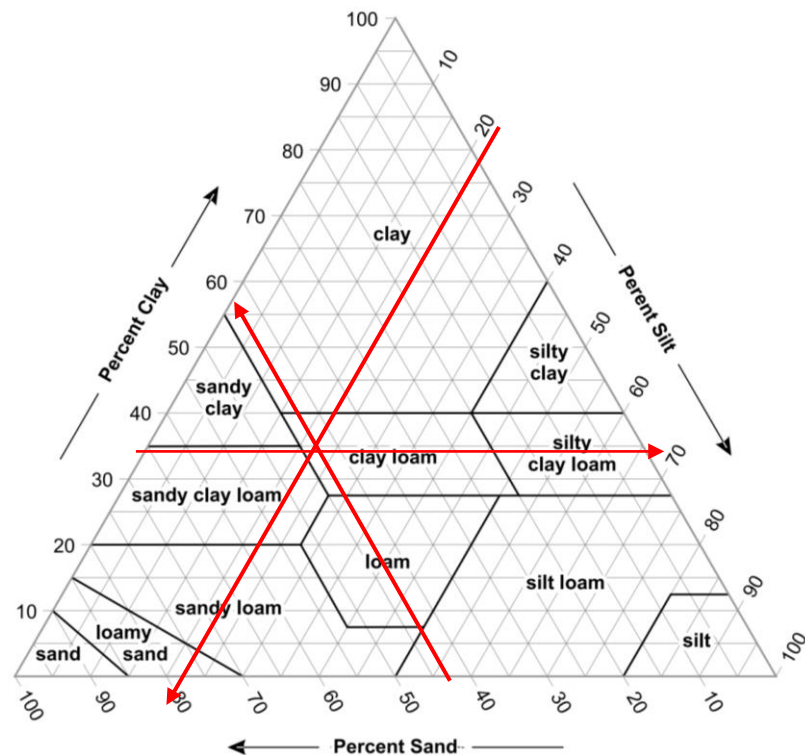
La textura fue determinada en función de los porcentajes obtenidos de arena, arcilla y limo de la muestra de suelo empleada, en donde:

Tabla 3: Porcentajes para la determinación de la textura del suelo

	Porcentaje
Arena	44,149
Arcilla	33,991
Limo	21,860

A partir de ello, se identificó el tipo de suelo a partir del triángulo textural de la USDA.

Ilustración 5: Determinación de la textura del suelo utilizado



Por lo tanto, la textura de suelo determinada fue “franco arcilloso”.

- Humedad

Para la humedad del suelo, se obtuvieron los siguientes datos para su determinación.

Tabla 4: Valores para la determinación de la humedad del suelo

	Valor
Suelo húmedo (g)	20,012
Suelo seco (g)	14,131
Agua en suelo (g)	5,881
Humedad (%)	29,39

- Cantidad de materia orgánica

La determinación de la materia orgánica se obtuvo en función del proceso y las relaciones descritas en el apartado previo. A partir de ello, se obtuvieron los siguientes valores:

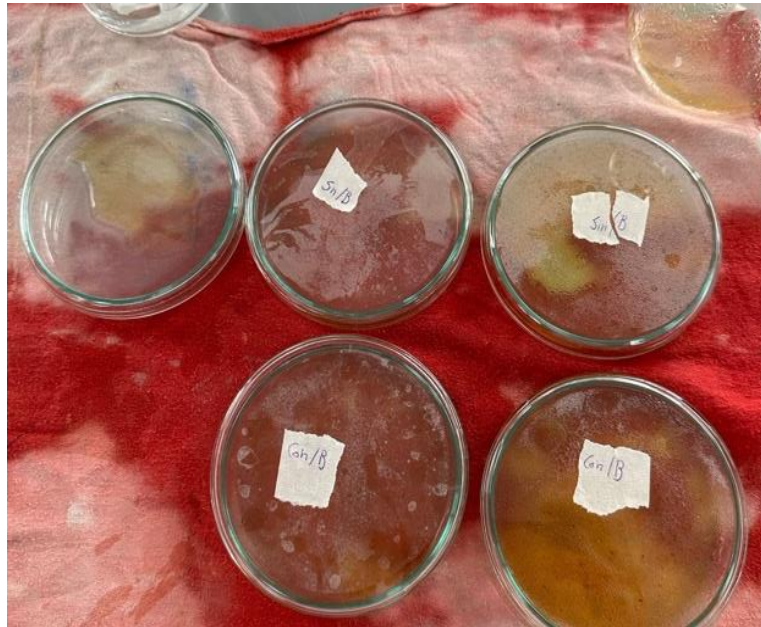
Tabla 5: Valores para la determinación del contenido de materia orgánica en el suelo

		Valor
A	Cápsula más suelo inicial	33,177
B	Cápsula más suelo calcinado	31,014
C	Cápsula desocupada	28,176
Cantidad en la muestra	Materia orgánica (g)	2,163
Porcentaje	Materia orgánica (%)	43,25

- Presencia de bacterias

Habiendo transcurrido el proceso de incubación para el caso de la siembra de bacterias, se detectó la presencia de bacterias, aunque en cantidades limitadas.

Ilustración 6: Resultados de la determinación de bacterias en el suelo



- Presencia de hongos

Por otra parte, en el caso de la siembra de hongos, luego de transcurrido el proceso de siembra e incubación, se registró el crecimiento de mohos en la muestra de suelo.

Ilustración 7: Resultados de la determinación de hongos en el suelo



Por último, se adjunta una tabla en la cual se resumen los resultados de todos los parámetros determinados.

Tabla 6: Resultados de la caracterización inicial del suelo

Parámetro	Valor determinado	Unidades
pH inicial	6,3	-
pH final	5,8	-
Conductividad inicial	186,5	μS/cm
Conductividad final	269	μS/cm
Densidad real	0,076	g/ml
Densidad aparente	1,25	g/ml
Textura del suelo	Franco arcilloso	-
Humedad	29,39	%
Cantidad de materia orgánica	43,25	%
Presencia de bacterias	Sí, poca cantidad	-
Presencia de hongos	Sí, mohos	-

Para el caso del pH, se determinó que el suelo tenía un pH de 6,3 es decir, este es ligeramente ácido. Esto indica que el suelo puede ser adecuado para el crecimiento de ciertas plantas, además, mejora la disponibilidad de ciertos nutrientes. No obstante, luego de haber vertido el contaminante y habiendo transcurrido dos meses de experimentación, se determinó que el pH fue de 5,8; es decir, debido a la presencia del contaminante, el suelo se acidificó.

La conductividad, por su parte, tuvo un valor inicial de 186,5 μS/cm, lo cual indica una conductividad eléctrica moderada. Además, este valor se encuentra relacionado con la cantidad de sales disponibles en el suelo. Por ello, su valor de 269 μS/cm al final de la experimentación indican que el contaminante aportó al suelo elementos como sales o metales, que ocasionaron el incremento del valor de este parámetro.

Con respecto a la densidad real del suelo, su valor fue de 0,076 g/ml. De manera general, es un valor un tanto bajo, lo cual indica una alta porosidad y aireación del suelo, lo cual tiene incidencia en la agricultura dado que facilita un mejor drenaje, fertilidad, permite el crecimiento de plantas y la propagación de sus raíces, y estimula la actividad microbiana del suelo. Así mismo, la alta porosidad y aireación resulta beneficiosa puesto que suelen minimizar la migración de contaminantes hacia las capas inferiores del suelo. Adicionalmente, la alta porosidad y aireación pueden estimular la actividad microbiana del suelo, facilitando la degradación de contaminantes.

En el caso de la densidad aparente, su valor fue de 1,25 g/ml. Este parámetro permite evaluar aspectos en relación a la textura del suelo y las propiedades del suelo referentes a su capacidad de filtración y retención de contaminantes. Con respecto al valor de este parámetro, se indaga que la

capacidad de retención de agua y contaminantes del suelo es moderada, esto resulta beneficioso dado que reduce la posibilidad de migración de sustancias tóxicas en el suelo o hacia aguas subterráneas.

Por otra parte, la textura del suelo resultó en “franco arcilloso”. Estos tipos de suelos poseen una combinación de partículas de distintos tamaños lo cual incide de manera positiva en ciertos aspectos. Conjuntamente con los valores de densidad real y aparente, indican que el suelo tiene la capacidad de retener agua y contaminantes, lo cual ayuda a que estos últimos no penetren con facilidad a las capas más internas del suelo, resultando en un punto clave para la fitorremediación. Además, confiere la capacidad de proporcionar nutrientes que favorecen el crecimiento de las plantas y otros organismos.

Los resultados del análisis de humedad del suelo arrojaron un valor del 29,39%. Este porcentaje representa la cantidad de agua presente en el suelo en relación con su peso seco. Un contenido de humedad del suelo de este nivel puede tener implicaciones significativas en varios aspectos, incluyendo la capacidad del suelo para retener nutrientes, la actividad microbiana y el crecimiento de las plantas. En el contexto de la fitorremediación, el contenido de humedad del suelo puede influir en la eficacia de la biodegradación de contaminantes, el crecimiento de las especies vegetales y la actividad microbiana desarrollada en el suelo.

En cuanto a la materia orgánica, se determinó que la muestra de suelo poseía un valor de 43,25% de contenido de materia orgánica, lo cual indica una alta proporción de esta en relación al peso seco. Un contenido de materia orgánica del suelo de este nivel puede tener implicaciones significativas en la fertilidad del suelo, la retención de humedad, la actividad microbiana y el crecimiento de las plantas, además implica que dentro del suelo se encuentren presentes nutrientes esenciales para las plantas, como: nitrógeno, fósforo y magnesio. En función de ello, el porcentaje de materia orgánica presente en el suelo, implica que el suelo posee la capacidad de aportar un ambiente propicio para el desarrollo de diversas especies vegetales, además de facilitar el desarrollo de la actividad microbiana y, en general, procesos de biorremediación y fitorremediación.

En cuanto a la presencia de bacterias, en la siembra se observó muy poco crecimiento de estas en el medio de cultivo preparado. Esto tiene incidencia en el desarrollo y crecimiento de algunas especies vegetales que desarrollan relaciones simbióticas con ciertas bacterias del suelo, principalmente con leguminosas como *Medicago sativa*. Por el contrario, en el caso de los hongos, se determinó la presencia principalmente de mohos en el suelo. Su presencia representa un beneficio dado que los hongos son fundamentales para la descomposición de la materia orgánica. Además, algunos tipos de hongos facilitan la capacidad de las plantas para crecer y obtener nutrientes como el nitrógeno, fósforo y potasio.

4.1.2 Resultados del proceso de la siembra de las dos especies vegetales con dos concentraciones distintas

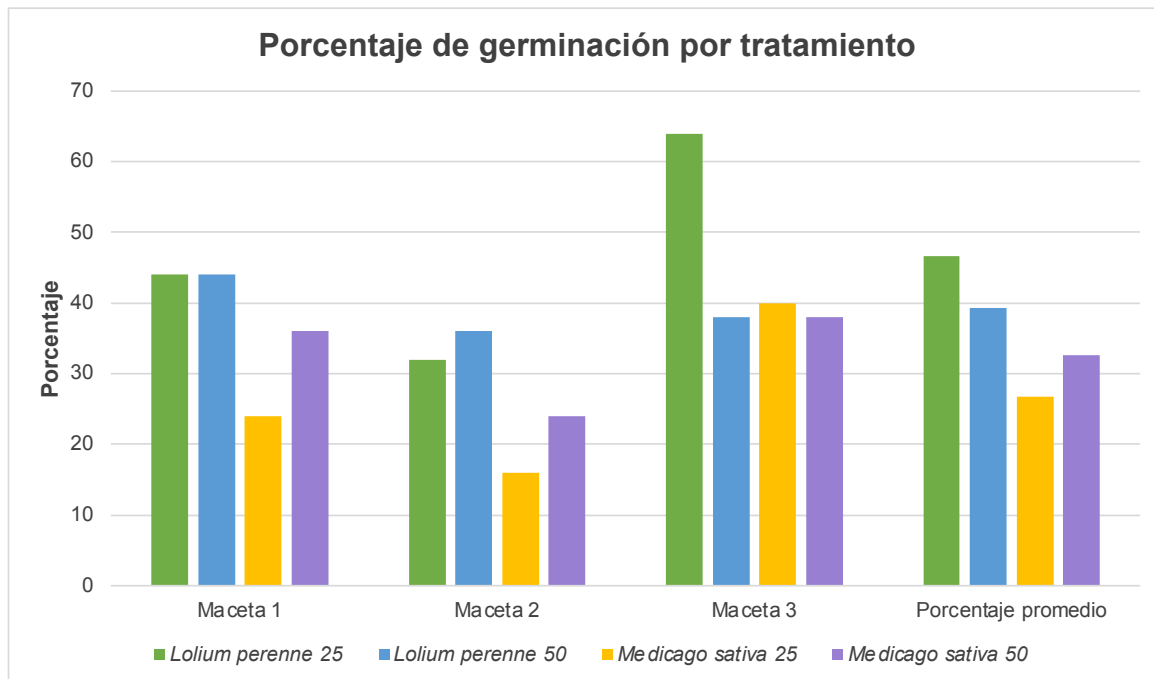
Sabiendo que, se partieron de cuatro tratamientos, con dos especies vegetales y dos densidades para cada una de ellas, se determinó el porcentaje de germinación de las semillas con la finalidad de observar la variación e incidencia de la germinación en función de la presencia del contaminante en el suelo.

La Tabla 7 y la Ilustración 8, muestran el número de individuos germinados y el porcentaje de germinación en cada tratamiento.

Tabla 7: Resultados de la cantidad de individuos germinados en cada tratamiento

	Individuos germinados			Porcentaje de germinación			Porcentaje promedio
	Maceta 1	Maceta 2	Maceta 3	Maceta 1	Maceta 2	Maceta 3	
<i>Lolium perenne</i> 25	11	8	16	44	32	64	46,67
<i>Lolium perenne</i> 50	22	18	19	44	36	38	39,33
<i>Medicago sativa</i> 25	6	4	10	24	16	40	26,67
<i>Medicago sativa</i> 50	18	12	19	36	24	38	32,67

Ilustración 8: Porcentaje de germinación de cada tratamiento



Como muestra la tabla 7 y en la ilustración 8, el tratamiento en el cual se registró el mayor porcentaje de germinación fue en las macetas sembradas la especie *Lolium perenne*, en una concentración de 25 individuos por maceta. Mientras que las macetas sembradas con *Medicago sativa* con 25 individuos cada una, registraron el porcentaje más bajo de germinación. Así mismo,

de todas las macetas, tan solo una correspondiente al tratamiento “*Lolium perenne* 25” registró un porcentaje de germinación mayor al 50%; todas las demás unidades experimentales registraron porcentajes mejor a este.

En base a estos aspectos, es importante destacar que la germinación de las especies depende de varios factores y condiciones del suelo y del sitio como tal. Sin embargo, en este contexto, se puede ver influenciada principalmente por la presencia del contaminante, además de la capacidad de la planta para adaptarse al entorno.

4.1.3 Resultados de la fitorremediación y determinación del tratamiento óptimo

En la tabla a continuación se exponen los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos, durante los 4 análisis realizados, siendo estos uno cada 15 días a partir del momento de la siembra.

Tabla 8: Resultados del proceso de fitorremediación, expresados en concentración y porcentaje

Días	Tratamiento	Concentración	Porcentaje de
		mg/kg	contaminante extraído
15 días	<i>Lolium perenne</i> 25	46836,235	6,328
	<i>Lolium perenne</i> 50	44845,816	10,308
	<i>Medicago sativa</i> 25	49917,155	0,166
	<i>Medicago sativa</i> 50	47778,339	4,443
30 días	<i>Lolium perenne</i> 25	43058,515	13,883
	<i>Lolium perenne</i> 50	40900,734	18,199
	<i>Medicago sativa</i> 25	46169,142	7,662
	<i>Medicago sativa</i> 50	43479,144	13,042
45 días	<i>Lolium perenne</i> 25	38984,905	22,030
	<i>Lolium perenne</i> 50	34981,853	30,036
	<i>Medicago sativa</i> 25	41542,030	16,916
	<i>Medicago sativa</i> 50	37577,119	24,846
60 días	<i>Lolium perenne</i> 25	27912,118	44,176
	<i>Lolium perenne</i> 50	22534,039	54,932
	<i>Medicago sativa</i> 25	38431,877	23,136
	<i>Medicago sativa</i> 50	30361,170	39,278
	Testigo	43982,236	12,036

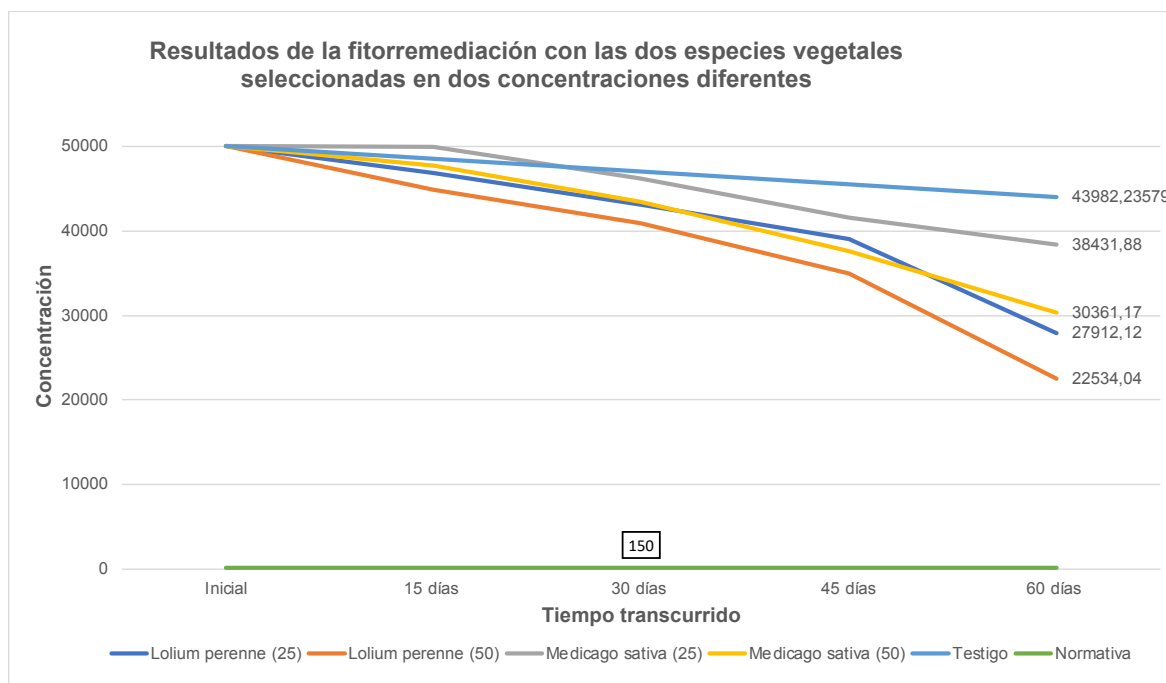
De acuerdo a los datos obtenidos, y sabiendo que la concentración inicial del contaminante en el suelo fue de 50000 ppm, los resultados muestran que, aplicando los tratamientos de cada especie vegetal en distintas concentraciones, se registra una disminución del contaminante en el suelo

variable para cada uno de estos. El tratamiento que mayor eficiencia registró fue el que utilizó *Lolium perenne* con una concentración de 50 individuos por maceta, logrando la disminución de un aproximado del 55% del contaminante. Si bien, *Medicago sativa* también muestra la capacidad de fitorremediación, su eficiencia es un tanto menor que la de *Lolium perenne*.

Esto mismo se puede apreciar de mejor manera a partir de los valores en porcentaje de la cantidad de contaminante extraído. En donde, los datos en la tabla registrados a los 60 días muestran que el tratamiento más eficiente para la fitorremediación del suelo contaminado con aceite residual automotriz fue en el caso del uso de *Lolium perenne* con una densidad de 50 individuos por maceta, seguido del tratamiento de *Lolium perenne* con 25 individuos por maceta, luego por el uso de *Medicago sativa* con 50 individuos, seguido de *Medicago sativa* con 25 individuos y finalmente el suelo testigo sin ningún tipo de tratamiento.

Así también, el gráfico muestra los resultados de la fitorremediación para cada especie vegetal con sus diferentes concentraciones y su variación a lo largo del tiempo de experimentación.

Ilustración 9: Resultados del proceso de fitorremediación para cada tratamiento



Mediante el gráfico se puede apreciar la variación de la concentración del contaminante en el suelo cada 15 días y la variación para cada uno de los tratamientos empleados. En el caso del suelo testigo, debido a que únicamente se realizaron mediciones al inicio y al final de la experimentación, no se puede observar como tal la variabilidad; sin embargo, se lo utiliza como el valor mínimo referencial y se considera que la degradación del contaminante se puede deber a la presencia de ciertos microorganismos propios del suelo.

Por otra parte, con respecto al tratamiento con 25 semillas por maceta de la especie *Lolium perenne*, se puede apreciar que durante las tres primeras semanas el ritmo de degradación se desarrolla bajo una tendencia lineal, mientras que, a partir de la tercera semana, se evidencia una aceleración en el porcentaje de degradación del contaminante. Para el caso del tratamiento de 50 semillas por maceta de *Lolium perenne*, ocurre algo similar, pero en este particular, la linealidad se mantiene durante las dos primeras semanas, mientras que al cabo de la tercera semana se registra un pequeño incremento en el porcentaje de degradación del contaminante; al cabo de la cuarta semana se registra ya un incremento significativo en el proceso de fitorremediación.

Contrario a ello, en el caso del tratamiento de 25 semillas por maceta de *Medicago sativa*, se evidencia que, durante la primera semana de experimentación, la degradación del contaminante es muy baja, mientras que, a partir de la segunda semana hasta inicios de la cuarta, incrementa el porcentaje de reducción del contaminante y para finales de la cuarta y última semana, la velocidad o porcentaje de degradación vuelve a presentar una disminución. Conjuntamente con ello, para el caso del tratamiento de 50 semillas por maceta de *Medicago sativa*, se registra algo similar que en el caso anterior. Durante la primera semana el porcentaje de remediación es bajo, mientras que, entre la segunda y tercera semana este se incrementa, siguiendo esta misma tendencia hasta la cuarta semana. En este caso particular, luego de la primera semana, hasta el final del proceso de experimentación, se registra que la degradación del contaminante sigue una tendencia casi lineal.

Cabe destacar, además, que, en ninguno de los tratamientos, durante los dos meses de experimentación, se alcanzó el valor de la normativa, permaneciendo aún por encima de esta. Sin embargo, esto permite tener una aproximación con respecto a qué tanto tardará en alcanzar este valor.

4.2 Discusión

En este apartado se discutirán los hallazgos más importantes determinados durante el desarrollo del proyecto de investigación y se indagará en las implicaciones de los mismos mediante el sustento en trabajos desarrollados previamente.

Como primer aspecto, es fundamental recalcar que el éxito de la fitorremediación depende de ciertas características como las condiciones propias del medio, la zona, las características del suelo, el tipo y la concentración del contaminante y las especies vegetales seleccionadas, la resistencia de estas a la fitotoxicidad del contaminante y su capacidad para reducir la concentración de estos (Panchenko et al., 2023; Muratova et al., 2008). En base ello, resulta primordial la evaluación inicial del suelo mediante la determinación de ciertas características tanto físicas, químicas como biológicas. En este caso particular, por otra parte, la selección de las especies estuvo fundamentada en la capacidad de estas para remediar suelos degradados por la presencia de diversos contaminantes de características similares; además, se tomó en cuenta la facilidad de estas especies para colonizar diversos ambientes, independientemente de las características ambientales

de la zona, siendo útiles para ser empleadas en diversos sitios y no únicamente en determinadas zonas.

Bajo estas consideraciones, los primeros resultados obtenidos durante este proyecto de investigación fueron los valores de la caracterización inicial del suelo. A partir de los parámetros evaluados se identificaron algunos aspectos principales, uno de ellos fue la textura del suelo que resultó ser franco arcilloso. Conjuntamente con ello, otros parámetros indicaron que el suelo empleado en la experimentación era un suelo con características óptimas para el desarrollo de ciertas especies vegetales. Así mismo, la cantidad de materia orgánica lo hacía un suelo óptimo para permitir el crecimiento y desarrollo de diversas especies vegetales, lo cual resulta en un aspecto a favor del proceso de fitorremediación. Por último, el análisis general microbiológico permitió identificar que, en este suelo, existía una alta presencia de hongos en comparación con la presencia de bacterias, lo cual es un punto a considerar para el análisis posterior desarrollado.

Por otra parte, el siguiente resultado determinado fue el porcentaje de germinación de las especies vegetales sembradas para cada uno de los tratamientos. Los resultados promedios para ello determinaron que, el tratamiento de 25 semillas por maceta de *Lolium perenne* fue el tratamiento que mayor porcentaje de germinación registró, con un valor de 46,67%. A este le sigue el tratamiento de 50 semillas por maceta de *Lolium perenne*, con un valor de 39,33%. A continuación, se encuentra el tratamiento de 50 semillas por maceta de *Medicago sativa* con el 32,67%; y, finalmente, el tratamiento de 25 semillas por maceta de *Medicago sativa* con un porcentaje de germinación del 26,67%. Siendo así que, ninguno de los tratamientos registró un porcentaje de germinación mayor al 50%. Muratova et al. (2008), mencionan que el porcentaje y la velocidad de germinación suele verse influenciado de manera negativa por la presencia del contaminante y la concentración del mismo en el suelo, siendo que algunas especies son más sensibles a este, mientras que otras poseen mayor capacidad de adaptabilidad. Además, esto se ve influenciado por las características propias del suelo.

En cuanto a la eficiencia de cada tratamiento para la degradación del contaminante, los resultados concluyeron que *Lolium perenne* resultó ser más eficiente para eliminar el aceite residual presente en el suelo, siendo que la densidad mayor de siembra (50 semillas por maceta) fue más efectiva que la densidad menor; pero ambos casos siendo más eficientes que la aplicación de *Medicago sativa*. Estudios similares realizados en los cuales se utilizaron las especies vegetales mencionadas, más otras especies, demostraron que *Lolium perenne* resulta ser mucho más efectiva que *Medicago sativa*. No obstante, esta última, pese a no ser tan eficiente en comparación con *Lolium perenne*, sí suele resultar ser efectiva en comparación con otras especies. Tal es el caso del trabajo desarrollado por Escobar et al. (2017), quienes emplearon una especie vegetal nativa (*Opuntia ficus indica*) y una especie introducida (*Medicago sativa*) para la fitorremediación de un suelo contaminado con aceite residual automotriz y plomo, resultando ser que *Medicago sativa* degradó, en 20 semanas, casi el 66% de los contaminantes, mientras que la especie nativa, en el mismo tiempo, únicamente logró extraer el 48% del contaminante. Es así que, pese a que su

capacidad de fitorremediación es menor en comparación con *Lolium perenne*, la especie *Medicago sativa*, es eficiente para la degradación de contaminantes en el suelo en contraste con otras especies. Esto mismo se determina en el caso del trabajo desarrollado por Yu et al. (2008), quienes emplearon diversas especies vegetales para la remediación de un suelo contaminado con lodos de petróleo, entre las cuales destacaron *Lolium perenne* y *Medicago sativa*, cuyos resultados determinaron que la primera especie resulta ser un tanto más efectiva; sin embargo, la segunda incrementó el porcentaje de microorganismos remediadores en el suelo.

Sin embargo, es importante destacar que no todo el porcentaje de degradación del contaminante puede atribuirse a las plantas utilizadas, ya que, ciertos microorganismos propios del suelo, pudieron haber contribuido durante este proceso. Sin embargo, debido a que la investigación únicamente se centra en las especies vegetales como tal, no se realizó un análisis paralelo en relación a los microorganismos y su acción para remediar el suelo. Siendo así que, esta consideración puede permitir el desarrollo de investigaciones futuras bajo este enfoque. No obstante, los resultados determinados con relación a las plantas y su capacidad para remediar el suelo fueron altamente satisfactorios y contribuyen en gran medida para hacer frente a la problemática a partir de la cual fue desarrollado el presente proyecto de investigación.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES

Una vez terminado el proceso de experimentación, y posterior al análisis e interpretación de los resultados finales obtenidos, es importante establecer las conclusiones finales del proyecto de investigación desarrollado, las cuales se describen en el presente capítulo.

Partiendo del primer objetivo definido para el presente proyecto, se desarrolló la caracterización inicial del suelo, mediante la cual, se sentó una línea base para comprender los resultados obtenidos para los siguientes objetivos. Como puntos principales, se determinó que características físicas y químicas como el pH y conductividad muestran rangos favorables del suelo previo al proceso de contaminación, indicando que el pH se halla dentro de los rangos óptimos de calidad, y los valores de conductividad indicando que existe una cantidad significativa de sales presentes en el suelo que resultan favorables para el crecimiento de las especies vegetales y el desarrollo de la actividad microbiana. No obstante, los valores de estos parámetros determinados al final de la experimentación indicaron que la presencia del contaminante ocasionó acidificación del suelo y el incremento de la capacidad de conductividad, siendo así que los valores finales determinados se hallaban por encima de los límites establecidos en la normativa. Por otra parte, la densidad real y aparente del suelo indicaron que este tenía buenas condiciones con relación a la aireación del suelo y su capacidad de filtración y retención de agua, así como de contaminantes. La textura del suelo, siendo "franco arcilloso", conjuntamente con los valores de densidad, indican que el suelo posee buena capacidad de retención de agua, además, su composición de porcentajes de arena, arcilla y limo lo hacen adecuado para la retención del contaminante evitando que este escurra hacia las capas más internas del suelo. Por otra parte, los valores de humedad y materia orgánica mostraron que este es óptimo para el desarrollo y crecimiento de las especies vegetales. Finalmente, el análisis microbiológico realizado, si bien, se desarrolló de una manera general, permitió definir que en el suelo existe amplia presencia de hongos, en relación a la presencia de bacterias. Esto puede tener cierta relación con respecto al proceso de fitorremediación puesto que, parte del proceso de extracción del contaminante puede ser atribuido a estos organismos.

Conjuntamente con ello, se evidenció que ambas plantas tuvieron la capacidad de adaptarse al medio contaminado en la concentración definida, además de reducir la concentración del contaminante, sin ningún método extra, en el suelo utilizado. Se determinó que la especie *Lolium perenne* tuvo mejor capacidad para adaptarse y germinar en relación a la especie *Medicago sativa*. En el primer caso, los porcentajes promedio de germinación fueron 46,67% y 39,33% para los tratamientos de 25 y 50 semillas, respectivamente. Mientras que, los porcentajes promedio de germinación para *Medicago sativa* fueron de 26,67% y 32,67% para los tratamientos de 25 y 50 semillas, respectivamente.

Es importante destacar que, si bien, el éxito de la fitorremediación depende de diversos factores, en este caso particular, el tipo de suelo y la concentración de contaminante permitieron que las

especies se desarrollen y realicen la extracción del contaminante de manera exitosa. De los cuatro tratamientos empleados, los más eficientes fueron aquellos que utilizaban *Lolium perenne* para la fitorremediación, mientras que aquellos que utilizaban *Medicago sativa* resultaron ser menos eficientes, pero, aun así, se pudo extraer en cierto porcentaje el contaminante. Para el caso del tratamiento de 25 semillas de *Lolium perenne*, se logró la extracción del 44,18% del contaminante. El tratamiento de 50 semillas de esta misma especie permitió la degradación de 54,93% del aceite vertido en el suelo. Por otra parte, los tratamientos de 25 y 50 semillas de *Medicago sativa* permitieron la extracción del 23,14% y 39,28%, respectivamente.

La importancia del uso de estas especies para procesos de fitorremediación de suelos contaminados con aceites residuales radica en que son especies que poseen la capacidad de adaptarse a diversos entornos y no son particulares de un solo sitio, pudiendo ser empleadas de manera eficiente en diferentes entornos.

Finalmente, es importante destacar la importancia de la búsqueda constante de alternativas para la remediación de un recurso tan importante como lo es el suelo, con el fin de hacer frente a una problemática que ha experimentado un notable aumento en los últimos años. El trabajo desarrollado permitió generar un aporte importante a la literatura, y abre camino para el desarrollo de nuevas investigaciones bajo un enfoque similar.

CAPÍTULO VI

6. RECOMENDACIONES

En primera instancia, se recomienda la fitorremediación de suelos que han sido degradados por el derrame de aceites residuales automotrices empleando ya sea *Lolium perenne* o *Medicago sativa*, de manera in situ en los sitios afectados como una alternativa económica y eficiente para el tratamiento de suelos.

Además, se recomienda el desarrollo de investigaciones enfocadas en el uso de plantas como una alternativa eficiente para la remediación de suelos que han sido degradados con la presencia de diversos contaminantes como el abordado en el presente trabajo.

En relación a ello, es importante tener en cuenta que el proceso de fitorremediación depende de varios factores, por lo cual, es fundamental realizar estudios específicos que analicen esta variabilidad con el fin de determinar aquellas condiciones y tratamientos más favorables. Se recomienda comparar también la eficiencia de tratamientos empleando especies como las descritas en el presente trabajo, así como también especies nativas.

Se recomienda, así mismo, realizar investigaciones enfocadas en los efectos toxicológicos que ocasionan los contaminantes en la planta y las alteraciones en su germinación, crecimiento y desarrollo.

Por otra parte, es fundamental explorar las variaciones de los resultados mediante una combinación entre fitorremediación y otros métodos como biorremediación por microorganismos y otros procesos como compostaje.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuerdo Ministerial 097-A. [Ministerio del Ambiente del Ecuador]. Anexos de Normativa, REFORMA LIBRO VI DEL TEXTO UNIFICADO DE LEGISLACION SECUNDARIA DEL MINISTERIO DEL AMBIENTE. 2015. Ministerio del Ambiente.
- Agamuthu, P., Abioye, O., y Abdul, A. (2010). Phytoremediation of soil contaminated with used lubricating oil using *Jatropha curcas*. *Journal of Hazardous Materials*, 197, 891 – 894. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.088>
- Alonso, J., García, V., Márquez, L., y Sánchez, J. (11 de Octubre de 2015). Biorremediación de suelo contaminado con 55,000 y 65,000 de aceite residual automotriz y fitorremediación con *Sorghum bicolor* inoculado con *Burkholderia cepacia* y *Penicillium chrysogenum* [Resumen de presentación de la conferencia]. *10mo Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación*. https://www.researchgate.net/publication/321212127_Biorremediacion_de_suelo_contaminado_con_55000_y_65000_de_aceite_residual_automotriz_y_fitorremediacion_con_Sorghum_bicolor_inoculado_con_Burkholderia_cepacia_y_Penicillium_chrysogenum10Congreso2015
- Alonso, J., Montaña, N., Santoyo, G., Márquez, L., Saucedo, B., y Sánchez, J. (2018). Biorecuperación y fitorremediación de suelo impactado por aceite residual automotriz. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 9(1), 45 – 51. http://www.scielo.org.bo/pdf/jsars/v9n1/v9n1_a04.pdf
- Andrade, C. (2015). *Propuesta de un plan de manejo sustentable de los aceites usados provenientes de los talleres automotrices y lubricadoras del cantón Cañar* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio de la Universidad Politécnica Salesiana.
- Balderas, I., Dasgupta, N., y Sánchez, J. (2015). Phytoremediation of soil contaminated with 35,000 ppm of waste motor oil. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 7(2), 75 – 87. https://www.researchgate.net/profile/Juan-Sanchez-Yanez/publication/288480222_Phytoremediation_of_soil_contaminated_with_35000_ppm_of_waste_motor_oil/links/592131d2a6fdcc4443f1919c/Phytoremediation-of-soil-contaminated-with-35-000-ppm-of-waste-motor-oil.pdf
- Balderas, I., y Sánchez, J. (2015). Biorremediación de suelo contaminado con 75000 ppm de aceite residual automotriz por bioestimulación y fitorremediación con *Sorghum vulgare* y *Bacillus cereus* y/ o *Burkholderia cepacia*. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 6(1), 23 – 32. http://www.scielo.org.bo/pdf/jsars/v6n1/v6n1_a04.pdf
- Barrera, L., y Velecela, F. (2015). *Diagnóstico de la contaminación ambiental causada por aceites usados provenientes del sector automotor y planteamiento de soluciones viables para el*

Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Azogues [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio de la Universidad Politécnica Salesiana.

- Barrios, L., Robayo, J., Prieto, S., y Cardona, S. (2015). Biorremediación de Suelos Contaminados con Aceites Usados de Motor. *CINTEX*, 20(1), 69 – 96. <https://revistas.pascualbravo.edu.co/index.php/cintex/article/view/31/33>
- Benavides, J., Quintero, G., Guevara, A., Jaimes, D., Gutiérrez, S., y García, M. (2006). Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, 4(5), 82 – 90. <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/351/1203>
- Buendía, H., Reyes, F., Meza, C., y Arévalo, J. (2014). FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS DE PETRÓLEO. *UNMSM*, (1). <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/alma/article/view/11873>
- Burbano, H. (2016). El suelo y su relación con los servicios ecosistémicos y la seguridad alimentaria. *Revista de ciencias agrícolas*, 33(2), 117 – 124. <http://scielo.org.co/pdf/rcia/v33n2/v33n2a11.pdf>
- Caldas, A. (2012). *Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido* [Tesis de grado, Universidad de Cuenca]. Repositorio Universidad de Cuenca.
- Campos, R. (2012). *Manual de suelos: Guías de laboratorio y campo*. Universidad de la Salle.
- Cherian, S., y Oliveira, M. (2005). Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental Science and Technology*, 39(24), 9377 – 9390. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16475312/>
- Código Orgánico del Ambiente [COA]. 2017. (Ecuador).
- CONSTITUCION DE LA REPUBLICA DEL ECUADOR 2008 [Constitución del 2008]. 2008 (Ecuador).
- Cubillos, J., Pulgarín, P., Gutiérrez, J., y Paredes, D. (2014). Fitorremediación en Aguas y Suelos Contaminados con Hidrocarburos del Petróleo. *Ingeniería y competitividad*, 16(1), 131 – 146. <http://www.scielo.org.co/pdf/inco/v16n1/v16n1a12.pdf>
- Dávila, P., Sánchez, J., y Cabrera, L. (1993). Las Gramíneas: características generales e importancia. *Boletín del Instituto de Botánica*, 1(6), 397 – 421. https://www.researchgate.net/publication/281493559_Las_Gramineas_caracteristicas_generales_e_importancia

- Delgadillo, A., González, C., Prieto, F., Villagómez, J., y Acevedo, O. (2011). FITORREMEDIACIÓN: UNA ALTERNATIVA PARA ELIMINAR LA CONTAMINACIÓN. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14, 597 - 612. <https://www.scielo.org.mx/pdf/tsa/v14n2/v14n2a2.pdf>
- Dominguez, E., y Pichtel, J. (2004). Phytoremediation of Soil Contaminated with Used Motor Oil: II. Greenhouse Studies. *Environmental Engineering Science*, 21(2). <https://doi.org/10.1089/109287504773087345>
- Escobar, L., Vaca, M., López, R., y Rojas, M. (2018). Hydrocarbon Degradation and Lead Solubility in a Soil Polluted with Lead and Used Motor Oil Treated by Composting and Phytoremediation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100, 280 – 285. <https://doi.org/10.3390/life13010177>
- Fassbender, H., y Bornemisza, E. (1994). *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. <https://books.google.com.ec/books?id=SqlGvAwjApEC&printsec=frontcover&dq=composici%C3%B3n+del+suelo&hl=es-#v=onepage&q&f=false>
- Foladori, G. (2001). Los problemas ambientales urbanos y sus causas. *R. paran. Desenv*, 100, 71 – 80. <http://ricaxcan.uaz.edu.mx/jspui/bitstream/20.500.11845/236/1/Foladori%2c%20Guillermo.%20Los%20problemas%20ambientales.pdf>
- Foresto, E. (2021). ¿Qué es una leguminosa y cómo se clasifican? Una actualización para estudiantes de nivel medio y superior. *Revista de Educación en Biología*, 24(2), 27 – 38. https://www.researchgate.net/publication/355965429_Que_es_una_leguminosa_y_como_se_clasifican_Una_actualizacion_para_estudiantes_de_nivel_medio_y_superior
- Glibovytska, N., Karavanovych, K., y Kachala, T. (2019). Prospects of Phytoremediation and Phytoindication of Oil-Contaminated Soils With the Help of Energy Plants. *Journal of Ecological Engineering*, 20(7), 147 – 154. <https://doi.org/10.12911/22998993/109875>
- González, J., Aponte, M., Bustamante, E., y Chomba, J. (2018). FITORREMEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON DOS NIVELES DE COBRE, MEDIANTE EL USO DEL CULTIVO DE LA ALFALFA “*Medicago sativa*”. *Searching Science*, 1(1), 1 – 10. <https://revista.uct.edu.pe/index.php/science/article/view/341/411>
- He, M., Li, Z., Chen, C., y Mei, P. (2022). Impact of soil types and root exudates on cadmium and petroleum hydrocarbon phytoremediation by *Sorghum sudanense*, *Festuca arundinaceae*, and *Lolium perenne*. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 1 – 14. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.1036765>

- Iturbe, R. (2010). *¿Qué es la biorremediación?*. Universidad Nacional Autónoma de México. https://www.dgdc.unam.mx/assets/cienciaboletto/cb_11.pdf
- Jaramillo, D. (2002). *Introducción a la ciencia del suelo*. Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/70085/70060838.2002.pdf>
- Jiménez, R (Ed.). (2017). *Introducción a la contaminación de suelos*. Mundi-Prensa. https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=iZg6DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=contaminacion+del+suelo&ots=i6HuTp1B3y&sig=HYy5Wk4wexDU9ANiliSyBac97W8&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Juárez, G., y Sánchez, J. (2014). Biorrestauración de suelo contaminado con aceite residual automotriz por bioestimulación con lombricomposta y fitorremediación con *Sorghum vulgare* inoculado con *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli*. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 2(1), 15 – 22. http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v2n1/v2n1_a03.pdf
- Juárez, G., Hernández, J., Nevárez, G., y Sánchez, J. (2016). Bioestimulación de suelo contaminado con 10000 ppm de aceite residual automotriz y fitorremediación con *Cicer arietinum* potenciado con *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli*. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 7(2), 66 – 74. http://www.scielo.org.bo/pdf/jsars/v7n2/v7n2_a04.pdf
- Kalev, S., y Toor, G. (2018). Chapter 3.9 - The Composition of Soils and Sediments en B. Torok, T. Dransfield (Eds.), *Green chemistry* (pp. 339–357). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809270-5.00014-5>
- Kathi, S., y Khan, A. (2011). Phytoremediation approaches to PAH contaminated soil. *Indian Journal of Science and Technology*, 4(1), 56 – 63. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=c87b89bce25590fb2d398b88469a23c597736247>
- Ley de Gestión Ambiental [LGA]. 2004. (Ecuador).
- Llanos, F. (2013). *Propuesta para el manejo del aceite usado de vehículos automotores en el cantón Sigsig* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio de la Universidad Politécnica Salesiana.
- López, M. (2016). Servicios ecosistémicos del suelo. *Revista Científica Ecuatoriana*, 10 – 12. <https://revistaecuadorescalidad.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorescalidad/index.php/revista/article/view/52/128>
- López, R. (2022). *Degradación del Suelo, causas, procesos, evaluación e investigación*. CIDIAT-ULA.

https://www.researchgate.net/publication/264311522_Degradacion_del_Suelo_causas_procesos_evaluacion_e_investigacion

- Martínez, A., Pérez, M., Pinto, J., Gurrola, B., y Osorio, A. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(3), 241 – 252. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v27n3/v27n3a9.pdf>
- Martínez, J., Sacbaja, O., y Prado, J. (2014). Conocimiento de la composición química del suelo en áreas de sucesión ecológica de bosques de abeto. *Revista Ra Ximhai*, 10(3), 161 – 173. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v27n3/v27n3a9.pdf>
- Martínez, S., Sánchez, A., Martínez, A., Núñez, F., y Octavio, P. (2016). BACTERIAS Y PLANTAS ¿SON ÚTILES EN LA REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS?. *TecnoINTELECTO*, 13(1), 1 – 10. https://www.researchgate.net/publication/310803347_Bacterias_y_plantas_Son_utiles_en_la_remediacion_de_suelos_contaminados_con_hidrocarburos
- Masiero, S. (2019). *Fitorremediación ex situ con Schinus molle L. en suelos mineros contaminados con plomo* [Resumen de presentación de la conferencia]. VI Congreso de Peruano de Biotecnología y Bioingeniería. https://www.academia.edu/39873501/Fitorremediaci%C3%B3n_ex_situ_con_Schinus_molle_L_en_suelos_mineros_contaminados_con_plomo
- Masu, S., Cojocariu, L., Grecu, E., Morariu, F., Bordean, D., Horablaga, M., Nita, L., y Nita, S. (2018). *Lolium Perenne* - A Phytoremediation Option in Case of Total Petroleum Hydrocarbons Polluted Soils. *Revista de Chimie*, 69(5), 1110 – 1114. <https://revistadechimie.ro/Articles.asp?ID=6270>
- Mendarte, C., Alarcón, A., y Ferrera, R. (2021). Fitorremediación: Alternativa biotecnológica para recuperar suelos contaminados con DDT. Una revisión. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 24, 1 – 15. <http://tip.zaragoza.unam.mx/index.php/tip/article/view/326>
- Molina, L., y Lozano, L. (2016). La desertificación del suelo, aspectos y estrategias de lucha. *Revista especializada en ingeniería*, 10, 117 – 127. <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/publicaciones-e-investigacion/article/view/1591/1923>
- Montaño, N., y García, R. (2016). Redescubriendo el suelo: su importancia ecológica y agrícola. *Terra Latinoamericana*, 34(4), 467 – 469. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792016000400467

- Muhammad, H., Yahya, M., Naeem, H., Ahmad, Z., Mehmood, S., Sohaib, M., Alotaibi, F., y Al-Barakah, F. (2023). Converging alfalfa (*Medicago sativa* L.) and petroleum hydrocarbon acclimated ACC-deaminase containing bacteria for phytoremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*, 25(6), 717 – 727. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15226514.2022.2104214>
- Munive, R., Loli, O., Azabache, A., y Gamarra, G. (2018). Fitorremediación con Maíz (*Zea mays* L.) y compost de Stevia en suelos degradados por contaminación con metales pesados. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 551 – 560. <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v9n4/a11v9n4.pdf>
- Muratova, A., Dmitrieva, T., Panchenko, L., y Turkovskaya, O. (2008). Phytoremediation of Oil-Sludge-Contaminated Soil. *International Journal of Phytoremediation*, 25(3), 314 – 321. <https://doi.org/10.1080/15226510802114920>
- Navarro, J., Aguilar, I., y López, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16(2), 1 – 17. https://www.researchgate.net/publication/39439866_Aspectos_bioquimicos_y_geneticos_de_la_tolerancia_y_acumulacion_de_metales_pesados_en_plantas
- Noguez, A., López, A., Carrillo, R., y González, M. (2017). USO DE LEGUMINOSAS (FABACEAE) EN FITORREMEDIACIÓN. *Agroproductividad*, 10(4), 57 – 62. https://www.researchgate.net/profile/Ma-Del-Carmen-Gonzalez-Chavez/publication/320237383_Uso_de_leguminosas_Fabaceae_en_Fitorremediacion/links/61670a8c25be2600ace1d28d/Uso-de-leguminosas-Fabaceae-en-Fitorremediacion.pdf
- Núñez, R., Meas, Y., Ortega, R., y Olguín, E. (2004). Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. *Ciencia – Academia Mexicana de Ciencias*, 55(3), 69 – 83. <https://biblat.unam.mx/es/revista/ciencia-academia-mexicana-de-ciencias/articulo/fitorremediacion-fundamentos-y-aplicaciones>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2018). *Guía de buenas prácticas para la gestión y uso sostenible de los suelos en áreas rurales*. FAO Colombia. <https://www.fao.org/3/i8864es/l8864ES.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2020). *Soil testing methods manual – Soil Doctors Global Programme – A farmer to farmer training programme*. FAO Rome. <https://books.google.com.ec/books?id=J5XpDwAAQBAJ&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Padilla, C., Buenaño, L., Audelo, M., Sánchez, D. (2022). Evaluación de la contaminación de aceites lubricantes en el piso de talleres y lubricadoras automotrices caso: ciudad de Riobamba. *Dominio de las Ciencias*, 8(2), 1626 – 1644. <https://dx.doi.org/10.23857/dc.v8i3>

- Padilla, C., Moreno, L., Buenaño, L., Cuaical, B., y Barrera, B. (2018). Análisis situacional del tratamiento de aceites automotrices residuales. *Polo del conocimiento*, 3(7), 172 – 181. <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/536/pdf>
- Panchenko, L., Muratova, A., Dubrovskaya, E., Golubev, S., Turkovskaya, O. (2023). Natural and Technical Phytoremediation of Oil-Contaminated Soil. *Life*, 13(1), 1 – 11. <https://doi.org/10.3390/life13010177>
- Rebuffo, M. (2005). Alfalfa: Principios de manejo del pastoreo. *INIA*, 5, 1 – 4. <https://studylib.es/doc/9324373/alfalfa-principios-del-manejo-del-pastoreo--inia->
- Rodríguez, N., McLaughlin, M., y Pennock, D. (2019). *LA CONTAMINACIÓN DEL SUELO: UNA REALIDAD OCULTA*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://www.fao.org/3/i9183es/i9183es.pdf>
- Rucks, L., García, F., Kaplán, A., Ponce, J., y Hill, M. (2004). *Propiedades físicas del suelo*. Universidad de la República, Uruguay. <https://bibliofagro.pbworks.com/f/propiedades+fisicas+del+suelo.pdf>
- Saldarriaga, J., López, J., Díaz, L., y Montoya, C. (2023). Changes in *Lolium perenne* L. rhizosphere microbiome during phytoremediation of Cd- and Hg-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 30, 49498 – 49511. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-023-25501-y>
- Sandoval, R. (2017). *Restauración de suelos degradados mediante el uso de gramíneas*. Editorial académica española. https://www.researchgate.net/publication/333092280_Restauracion_de_suelos_degradados_mediante_el_uso_de_gramineas
- Sangabriel, W., Ferrera, R., Trejo, D., Mendoza, M., Cruz, S., López, C., Delgadillo, J., y Alarcón, A. (2006). TOLERANCIA Y CAPACIDAD DE FITORREMEDIACIÓN DE COMBUSTÓLEO EN EL SUELO POR SEIS ESPECIES VEGETALES. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 22(2), 63 – 73. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v22n2/0188-4999-rica-22-02-63.pdf>
- Santoyo, G., Higadera, A., Marquez, L., De la Cruz, J., Sánchez, J. (2019). Biorremediación y fitorremediación de suelo impactado por 85,000 ppm de aceite residual automotriz. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 15(1), 17 – 23. <https://revista.itson.edu.mx/index.php/rlrn/article/view/276/209>
- Saucedo, B., Márquez, L., Santoyo, G., y Sánchez, J. (2022). Biorecovery of Agricultural Soil Impacted by Waste Motor Oil with *Phaseolus vulgaris* and *Xanthobacter autotrophicus*. *Plants*, 11(11), 1 – 11. <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/11/1419>

- Soto, J. (2022). *Uso de fabáceas como alternativa de fitorremediación de suelos contaminados por petróleo en la provincia de Santa Elena* [Tesis de grado, Universidad Estatal de la Península de Santa Elena]. Repositorio Universidad Estatal de la Península de Santa Elena.
- Suarez, R. (2013). *GUÍA DE MÉTODOS DE BIORREMEDIACIÓN PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBURO* [Tesis de maestría, Instituto de postgrados ingeniería de la Universidad Libre. Repositorio Universidad Libre.
- United States Department of Agriculture. (2018). *Soil survey manual*. USDA. <https://www.nrcs.usda.gov/sites/default/files/2022-09/The-Soil-Survey-Manual.pdf>
- Volke, T., y Velasco, J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados. SEMARNAT*.
<https://books.google.com.ec/books?id=mj9rVEScHCcC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Weil, R., y Brady, N. (2017). *The Nature and Properties of Soils, 15th edition*. Pearson Education. https://www.researchgate.net/publication/301200878_The_Nature_and_Properties_of_Soils_15th_edition
- Yuan, L., Wu, Y., Fan, Q., Li, P., Liang, J., Liu, Y., Ma, R., Li, R., y Shi, L. (2023). Remediating petroleum hydrocarbons in highly saline–alkali soils using three native plant species. *Journal of Environmental Management*, 339. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117928>
- Zhang, X., Kang, Y., y Xu, D. (2012). Physiological Response of *Lolium perenne* to Petroleum Pollution and Removal Efficiency in Petroleum-Polluted Soil. *Trans Tech Publications*, 518–523, 2665 – 2669. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.2665>

ANEXOS

Anexo 1: Preparación del suelo para la aplicación del contaminante



Anexo 2: Determinación de la cantidad de contaminante a utilizar



Anexo 3: Mezcla de la tierra con el aceite residual automotriz



Anexo 4: Siembra de las unidades experimentales



Anexo 5: Preparación de los medios de cultivo para la determinación de la presencia de microorganismos en el suelo



Anexo 6: Tamices para la determinación de la textura del suelo



Anexo 7: Determinación de la conductividad del suelo mediante el uso del multiparamétrico



Anexo 8: Conteo del número de individuos germinados



Anexo 9: Análisis de la cantidad de hidrocarburo eliminado luego del lavado de suelo en el equipo Soxhlet



Anexo 10: Determinación de pesos para el cálculo de la humedad del suelo



Anexo 11: Determinación de la concentración del contaminante en cada análisis realizado

Días	Tratamiento	Soporte	Soporte + filtro	Filtro	Suelo	Soporte + filtro + suelo	Filtro + suelo lavado seco	Suelo lavado seco	Humedad	Suelo inicial - humedad	Contaminante	Contaminante	Suelo seco	Concentración
		gramos	gramos	gramos	gramos	gramos	gramos	gramos	%	gramos	gramos	miligramos	kilogramos	mg/kg
15 días	<i>Lolium perenne</i> 25	24,89	26,435	1,545	11	37,435	10,996	9,451	9,86	9,9154	0,4644	464,4	0,0099154	46836,23454
	<i>Lolium perenne</i> 50	24,86	26,413	1,553	11,002	37,415	11,016	9,463	9,95	9,907301	0,444301	444,301	0,0099073	44845,81623
	<i>Medicago sativa</i> 25	25,49	27,05	1,56	10,999	38,049	10,989	9,429	9,77	9,9243977	0,4953977	495,3977	0,0099244	49917,15517
	<i>Medicago sativa</i> 50	25,42	27,007	1,587	11,01	38,017	11,032	9,445	9,91	9,918909	0,473909	473,909	0,00991891	47778,33933
30 días	<i>Lolium perenne</i> 25	24,89	26,457	1,567	10,997	37,454	11,156	9,589	8,88	10,0204664	0,4314664	431,4664	0,01002047	43058,51472
	<i>Lolium perenne</i> 50	24,86	26,4	1,54	11,003	37,403	10,834	9,294	11,93	9,6903421	0,3963421	396,3421	0,00969034	40900,73353
	<i>Medicago sativa</i> 25	25,49	27,08	1,59	11	38,08	10,8	9,21	12,22	9,6558	0,4458	445,8	0,0096558	46169,14186
	<i>Medicago sativa</i> 50	25,42	26,966	1,546	10,989	37,955	10,737	9,191	12,56	9,6087816	0,4177816	417,7816	0,00960878	43479,14412
45 días	<i>Lolium perenne</i> 25	24,89	26,388	1,498	10,978	37,366	10,398	8,9	15,64	9,2610408	0,3610408	361,0408	0,00926104	38984,90545
	<i>Lolium perenne</i> 50	24,86	26,416	1,556	11,01	37,426	10,398	8,842	16,78	9,162522	0,320522	320,522	0,00916252	34981,85325
	<i>Medicago sativa</i> 25	25,49	27,003	1,513	10,999	38,002	10,031	8,518	19,2	8,887192	0,369192	369,192	0,00888719	41542,03037
	<i>Medicago sativa</i> 50	25,42	26,908	1,488	10,909	37,817	9,966	8,478	19,25	8,8090175	0,3310175	331,0175	0,00880902	37577,11913
60 días	<i>Lolium perenne</i> 25	24,89	26,43	1,54	11,002	37,432	9,82	8,28	22,58	8,5177484	0,2377484	237,7484	0,00851775	27912,11818
	<i>Lolium perenne</i> 50	24,86	26,237	1,377	11	37,237	9,597	8,22	23,55	8,4095	0,1895	189,5	0,0084095	22534,03888
	<i>Medicago sativa</i> 25	25,49	26,296	0,806	10,998	37,294	9,721	8,915	15,7	9,271314	0,356314	356,314	0,00927131	38431,87708
	<i>Medicago sativa</i> 50	25,42	26,612	1,192	11	37,612	8,975	7,783	27,03	8,0267	0,2437	243,7	0,0080267	30361,1696
	Testigo	24,89	26,44	1,55	10,994	37,434	10,795	9,245	12,04	9,6703224	0,4253224	425,3224	0,00967032	43982,23579



AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Jorge Andrés Moreno Molina portador(a) de la cédula de ciudadanía N° 0106579568. En calidad de autor/a y titular de los derechos patrimoniales del proyecto de titulación **“Fitorremediación de suelos contaminados en mecánicas automotrices, utilizando Lolium perenne y Medicago sativa, en laboratorio”** de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste proyecto de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 08 de marzo de 2024

F: 

Jorge Andrés Moreno Molina

C.I. 0106579568