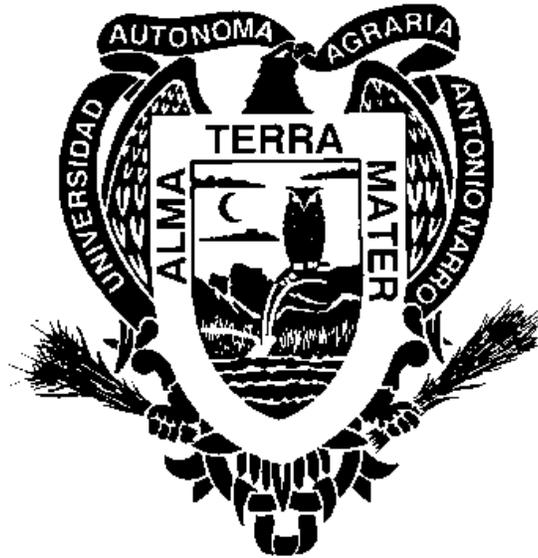


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**“ADAPTACIÓN DEL GIRASOL (*Helianthus annuus* L.) A SUELOS
CONTAMINADOS CON GASOLINA Y TRATADOS CON ESTIÉRCOL”**

POR:

CINTHIA MARISOL MUÑOZ CHAVARRÍA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

Torreón, Coahuila, México.

Septiembre de 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

**ADAPTACIÓN DEL GIRASOL (*HELIANTHUS ANNUUS L.*) A SUELOS
CONTAMINADOS CON GASOLINA Y TRATADOS CON ESTIÉRCOL**

POR:

CINTHIA MARISOL MUÑOZ CHAVARRÍA

TESIS:

QUE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ ASESOR COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

REVISADA POR EL COMITÉ ASESOR:

ASESOR PRINCIPAL:



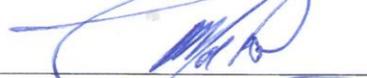
DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS

ASESOR:



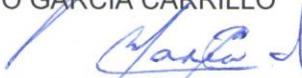
DR. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO

ASESOR:



DR. MARIO GARCÍA CARRILLO

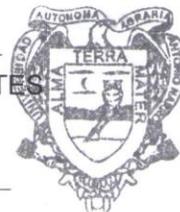
ASESOR:



BIOL. MARÍA ISABEL BLANCO CERVANTES



M.E. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO



COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

SEPTIEMBRE DE 2016.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

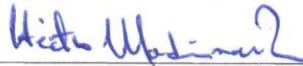
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS DEL (LA) C. **CINTHIA MARISOL MUÑOZ CHAVARRÍA**, QUE SE
SOMETE A LA CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN PROCESOS AMBIENTALES

REVISADA POR EL COMITÉ ASESOR:

PRESIDENTE:



DR. HÉCTOR MADINAVEITIA RÍOS

VOCAL:



DR. JOSÉ LUIS REYES CARRILLO

VOCAL:

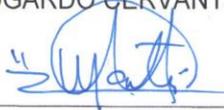


DR. MARIO GARCÍA CARRILLO

VOCAL:



M.C. EDGARDO CERVANTES ÁLVAREZ



M.E. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO



COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

SEPTIEMBRE DE 2016.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios, por ser mi fortaleza, mi luz y mi guía en el camino hacia mi meta, y poder así terminar todos mis estudios.

Agradezco al laboratorio de suelos, por permitirme realizar los análisis que se llevaron a cabo para la obtención de los resultados de este proyecto.

Mi asesor principal Dr. Héctor Madinaveitia, la Biol. María Isabel blanco, los maestros Dr. José Luis Reyes Carrillo, Dr. Mario García Carrillo y M.C. Edgardo Cervantes Álvarez, que me asesoraron, por mostrar un gran interés en el proyecto, por sus conocimientos acerca del tema ya que estuvieron ahí para guiarme en todo momento durante la realización de dicho trabajo así como sus valiosas observaciones.

Agradezco al laboratorista del departamento de suelos al técnico académico José Silverio Álvarez Valadez, la M.V.Z Diana Elizabeth Salazar Nevares. Y a la Biol. María Isabel Blanco.

DEDICATORIA

A mi madre Ma. Inés Chavarría Escajeda, por su apoyo incondicional a lo largo en esta etapa de mi vida, por los valores que me ha inculcado, sus consejos, su cariño y sobre todo por el gran esfuerzo que ha hecho todos estos años para sacar adelante a la familia, para poder así concluir mis estudios. Por todo el amor que me ha brindado y la paciencia que me ha tenido, eres mi ejemplo a seguir. Te quiero mucho mamá.

Mis hermanos Karla Nathaly, Marco Antonio, que siempre estuvieron a mi lado en cada momento.

A Todos mis amigos incondicionales que estuvieron conmigo en las buenas y las malas durante todo el camino, Cristina Yhoselin, Daniel Cruz, Jiovana Portillo, Paul Cervantes, Samuel Aguiar, Carlos Muro, Dyane Montellano gracias por su amistad y el apoyo que me han brindado en el transcurso de la carrera, por los momentos vividos a su lado que no cambiaría por nada del mundo los quiero mucho.

RESUMEN

El objetivo general de este trabajo fue medir el potencial de adaptación del Girasol (*Helianthus annuus* L.) como fitorremediadora de suelos con estiércol contaminados con distintas dosis de hidrocarburos (gasolina). Se midieron variables del suelo y suelo mezclado con estiércol medidas en laboratorio. Las variables que se evaluaron fueron: Materia Orgánica, textura, Fósforo, Nitrógeno, pH, Conductividad Eléctrica y Carbonatos. Se organizaron los siguientes tratamientos: el tratamiento 1, el 2 y el 3 con suelo y estiércol a los que se les aplicó 50 ml, 100 ml y 150 ml de gasolina respectivamente. El tratamiento 4 al igual que los anteriores contuvo suelo y estiércol pero no se le aplicó gasolina, siendo el testigo 1. El tratamiento 5 solo contuvo suelo y tampoco se le aplicó gasolina siendo el testigo 2. Para cada tratamiento se requirieron 4 repeticiones. En total fueron 20 macetas de girasol las que se emplearon en este experimento. Las variables evaluadas en las plantas fueron: Altura, tamaño de hojas y cantidad de hojas. Realizándose dichas evaluaciones antes y después de las aplicaciones de la gasolina. Los resultados que se obtuvieron en el experimento se pudo observar que el girasol (*Helianthus annuus* L.) se adaptó al suelo contaminado con el hidrocarburo (gasolina) esto se debió principalmente a que el estiércol ayudó en la adaptación de la planta a pesar de las condiciones a las que fueron sometidas.

Palabras clave: biotecnología ambiental, microorganismos, biorremediación, fitorremediación, hidrocarburos, estiércol de conejo, girasol.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	II
RESUMEN	III
CONTENIDO	IV
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo general.	3
1.2 Hipótesis.	3
CAPÍTULO II	4
2.1 El suelo.	4
2.2 Estructura y componentes del suelo.	4
2.2 Hidrocarburos.	5
2.2.1 Características fisicoquímicas de los hidrocarburos.	5
2.2.2 Consecuencias ambientales: contaminación de un suelo con hidrocarburos.	7
2.2.3 Situación en México.	8
2.2.4 Legislación ambiental en materia de hidrocarburos.	9
2.3 Biodegradación.	10
2.3.1 Características del hidrocarburo contaminante.	10
2.3.2 Biodegradación de hidrocarburos.	11
2.3.3 Factores que influyen en la biodegradación de hidrocarburos de petróleo.	11
2.3.4 La distribución de hidrocarburos de petróleo utilizando microorganismos.	12
2.3.5 Aspectos genéticos de la degradación de hidrocarburos de petróleo.	12
2.4 Biotecnología Ambiental.	13
2.5 Biorremediación.	14
2.5.1 Proceso de biorremediación.	15
2.5.2 Tipos de biorremediación.	15
2.5.3 Estrategias de biorremediación.	16
2.5.4 Ventajas y Desventajas.	16
2.6 Fitorremediación.	17

2.6.1 Fitoextracción.....	18
2.6.2 Fitotransformación.....	18
2.6.3 Rizofiltración.....	19
2.6.4 Fitoestabilización.....	19
2.6.5 Fitodegradación.....	20
2.6.6 Rizodegradación.....	20
2.6.7 Fitovolatilización.....	20
2.6.8 Ventajas de la fitorremediación.....	21
2.6.9 Desventajas de la fitorremediación.....	21
2.6.10 Función de la planta en la fitorremediación de hidrocarburos totales del petróleo.....	22
2.7 Girasol (<i>Helianthus annuus</i> L.).....	22
2.8 Taxonomía y Morfología.....	22
2.9 Ciclo del girasol.....	23
2.10 Descripción Técnica.....	23
2.10.1 Luz.....	23
2.10.2 El agua.....	24
2.10.3 El suelo.....	24
CAPÍTULO III.....	25
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1 Localización y descripción del sitio.....	25
3.2 Variables del suelo y suelo mezclado con estiércol medidas en laboratorio... 25	25
3.3 Material biológico.....	26
3.4 Diseño experimental.....	26
3.5 Variables a evaluar en plantas.....	26
3.6 Análisis de variables evaluadas.....	26
CAPÍTULO IV.....	27
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1 Peso total del suelo de las macetas.....	27
4.2 Variables medidas en el suelo.....	28
4.3 Variables medidas en el girasol.....	31
4.4 Evolución de la adaptación del girasol después de la aplicación de la gasolina a los distintos tratamientos.....	33
CAPÍTULO V.....	35

CONCLUSIONES	35
CAPÍTULO VI	36
LITERATURA CITADA	36
APÉNDICE	41

ÍNDICE DE IMÁGENES

CONTENIDO	Pág.
1. Estructura de los hidrocarburos del petróleo.	6
2. Principales sustancias involucradas en emergencias ambientales reportadas a la PROFEPA entre 1997 y 1999.	8
3. Ciclo ontogénico y componentes del rendimiento del girasol.	23
4. Preparación del suelo con estiércol.	34
5. Llenado de las bolsas con el sustrato preparado en el invernadero del Jardín Botánico-UL "Jersey Rzedowski Rotter"	34
6. Orden de los tratamientos en la mesas de trabajo del invernadero.	35
7. Aplicación de gasolina a los tratamientos T1, T2, T3 con las respectivas dosis de %0ml, 100ml y 150ml.	35
8. Crecimiento de la planta.	36
9. Floración del girasol T4.	36

ÍNDICE DE CUADROS

1. Peso total de las macetas. Preparadas con suelo y estiércol.	Pág. 27
2. Características físicas del suelo preparado con estiércol en el Jardín botánico-UL "Jersey Rzedowski Rotter".	27
3. Características químicas del suelo preparado con estiércol en el Jardín botánico-UL "Jersey Rzedowski Rotter".	28
4. Longitud de tallo (cm), tamaño de hojas (cm) y número de hojas del girasol antes de la aplicación de gasolina.	28
5. Longitud de tallo (cm), tamaño de hojas (cm) y número de hojas del girasol después de la aplicación de gasolina.	29

CAPÍTULO I.

INTRODUCCIÓN

Durante el último siglo, la economía mundial industrializada ha llevado a aumentar de manera espectacular en la producción de contaminantes antropogénicos tóxicos en el medio ambiente, causando una contaminación generalizada del suelo y el agua. Tales actividades antropogénicas que liberan enormes cantidades de petróleo hidrocarburos (PHC), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), hidrocarburos halogenados, pesticidas, disolventes, metales y sal, han causado un daño sobre el humano y los ecosistemas (Bisht *et al.*, 2014).

La intensificación de la agricultura y las industrias manufactureras se ha traducido en aumento de la liberación de una amplia gama de compuestos xenobióticos en el medio ambiente (Kuma *et al.*, 2011). Los contaminantes entran al medio ambiente directamente como resultado de accidentes, derrames durante el transporte, las fugas de eliminación o almacenamiento de residuos en sitios dados, o de instalaciones industriales. En respuesta a una creciente necesidad de hacer frente a la contaminación ambiental, muchas tecnologías de remediación se han desarrollado para tratar la tierra, lixiviados, aguas residuales y aguas subterráneas contaminadas por diversos contaminantes, incluyendo métodos *in situ* y *ex situ*. Entre las tecnologías a emplear para solucionar el problema está la biotecnología ambiental que trata del uso de seres vivos para resolver problemas ambientales especialmente la contaminación.

Entre las técnicas empleadas en la biotecnología ambiental está la biorremediación, la fitorremediación y la zoorremediación. En el caso del presente trabajo se empleó la fitorremediación, que se define como el uso de vegetación para el tratamiento *in situ* de suelos contaminados, los sedimentos y el agua, es una biotecnología ambiental que ha atraído recientemente el interés de los científicos, la opinión pública, los organismos reguladores, y la administración pública (Marmiroli *et al.*, 2006).

El desarrollo y la mejora de los métodos de fitorremediación de suelos contaminados dependen de la eficiencia de las plantas que tienen potencial fitorremediador. En este trabajo se propone que el girasol es una planta fitorremediadora que es eficiente para eliminar la contaminación de suelos originada por derrames derivados del petróleo como es el caso de la gasolina. Para hacer más eficiente la fitorremediación al suelo se le agregó estiércol.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

1.1 Objetivo general.

Medir la adaptación del Girasol (*Helianthus annuus L.*) como una planta remediadora de suelo con estiércol y contaminado con distintas dosis de gasolina.

1.1.1 Objetivos específicos

- En suelos: Medir textura, contenido de materia orgánica, pH, fósforo, nitrógeno, conductividad eléctrica y carbonatos y bicarbonatos.
- En suelo más estiércol: medir textura, contenido de materia orgánica, pH, fósforo, nitrógeno, conductividad eléctrica, carbonatos y bicarbonatos.
- En planta: medir longitud del tallo, tamaño de hojas y cantidad de hojas después de la aplicación de gasolina en suelos.

1.2 Hipótesis.

El establecimiento y crecimiento del Girasol (*Helianthus annuus L.*) en suelos contaminados con gasolina indica que es una especie fitorremediadora.

Los microorganismos que se encuentran en el estiércol es posible que favorezcan la degradación de la gasolina.

CAPÍTULO II.

2.1 El suelo.

El suelo se define como un material no consolidado sobre la superficie de la tierra, que ha sido formado mediante una dinámica natural a partir de la corteza terrestre con la influencia de factores biológicos y ambientales, proceso que ha tomado miles de años para tenerlo en su estado comúnmente conocido, es un medio complejo y dinámico en constante evolución. El suelo y subsuelo constituyen un recurso natural difícilmente renovable que desempeña funciones como medio filtrante durante la recarga de los mantos acuíferos y la protección de los mismos es el lugar donde ocurren los ciclos biogeoquímicos, hidrológicos y las redes tróficas, además de ser el espacio donde se realizan las actividades agrícolas, ganaderas y ser el soporte de la vegetación (Ortínez *et al.*, 2015).

En la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental (LGEEPA), la importancia del suelo está más bien dirigida hacia actividades agrícolas y forestales.

2.2 Estructura y componentes del suelo.

El suelo se define como la parte superior de la corteza terrestre, y se trata de un sistema formado por componentes minerales (meteorización de las rocas), componentes orgánicos (humus y derivados, biomasa viva y muerta), gas (aire en el espacio existente en los poros), y agua envolviendo partículas y el espacio capilar. El suelo constituye la interfaz entre la tierra, el aire y el agua, lo que le confiere la capacidad de desempeñar tanto funciones naturales como de uso antropogénico (Viñas, 2005). El suelo constituye un recurso natural que desempeña diversas funciones en la superficie de la Tierra, proporcionando un soporte mecánico, así como nutrientes para el crecimiento de plantas y micro-organismos. La matriz del suelo está formada por cinco componentes principales:

minerales, aire, agua, materia orgánica y organismos vivos. Los materiales minerales son los principales componentes estructurales y constituyen más del 50% del volumen total del suelo. El aire y el agua juntos ocupan el volumen de los espacios, y usualmente conforman de 25% a 50% del volumen total. La proporción relativa de aire/ agua fluctúa considerablemente con el contenido de humedad del suelo. El material orgánico ocupa entre 3% y 6% del volumen promedio, mientras que los organismos vivos constituyen menos del 1% (Volke y Velasco, 2002).

2.2 Hidrocarburos.

2.2.1 Características fisicoquímicas de los hidrocarburos.

Los hidrocarburos son compuestos orgánicos que contienen carbono e hidrógeno. El número de carbonos y su estructura química determina su clasificación. Los hidrocarburos alifáticos son de cadena lineal o ramificada y pueden ser saturados (alcanos) o insaturados (alquenos y alquinos). Los hidrocarburos de cadenas cíclicas, pueden ser saturados (cicloalcanos) o con uno o más anillos bencénicos (aromáticos) (Olguín *et al.*, 2007).

Los hidrocarburos constituyen del 50-98 % de la composición total del petróleo, están formados por alcanos, cicloalcanos y compuestos aromáticos (Fig.2), con al menos un anillo bencénico en su estructura. La gasolina está constituida aproximadamente por 70 % de compuestos alifáticos saturados y 30 % de hidrocarburos aromáticos como el benceno, tolueno e isómeros del xileno (conocidos en su conjunto como BTX) (Phelps y Young, 2001).

Los alcanos son casi totalmente insolubles en agua debido a su baja polaridad y a su incapacidad para formar enlaces con el hidrógeno. Los alcanos líquidos son miscibles entre sí y generalmente se disuelven en disolventes de baja polaridad como el benceno, tetracloruro de carbono, cloroformo y otros alcanos. Su densidad incrementa con el tamaño de la molécula, siendo en todos los casos menos densos que el agua (Olguín *et al.*, 2007).

Los ciclo alcanos presentan puntos de ebullición y de fusión mayores a los que se observan en los alcanos y también poseen densidades mayores, lo cual probablemente se deba a que sus moléculas son más rígidas y simétricas, lo que les permite tener fuerzas de atracción intermolecular muy efectivas. Los hidrocarburos aromáticos son líquidos o sólidos a temperatura ambiente y sus puntos de ebullición están cercanos a los de los ciclo alcanos correspondientes. Al igual que los hidrocarburos descritos anteriormente, los compuestos aromáticos son poco polares o no polares y por lo mismo, no se disuelven en agua. Los electrones de los anillos aromáticos pueden tener una débil atracción con enlaces polares de otras moléculas, lo cual los hace excelentes solventes orgánicos. La unión de dos anillos bencénicos produce hidrocarburos poli aromáticos (HPA). Dichos compuestos son de interés ambiental y de salud pública en relación con sus propiedades carcinogénicas como es el caso del 3-4 benzopireno (Botello, 2005).

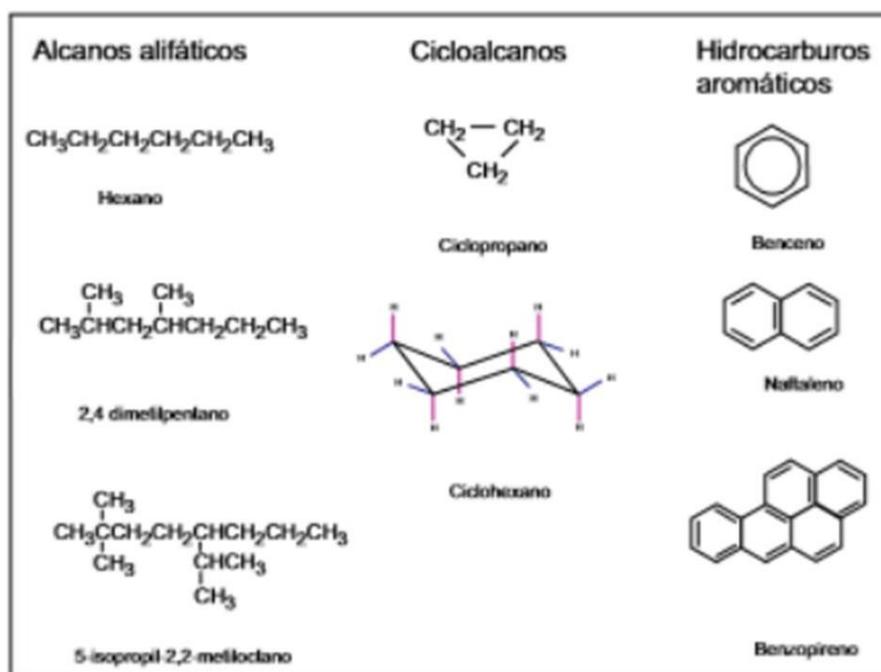


Figura 1. Estructura de los hidrocarburos del petróleo (Botello, 2005).

Figura 1. Estructura de los hidrocarburos del petróleo (Botello, 2005).

2.2.2 Consecuencias ambientales: contaminación de un suelo con hidrocarburos.

La contaminación del suelo es una consecuencia de la acumulación de una amplia gama de compuestos químicos generados ya sea por procesos naturales o industriales. La existencia de sitios contaminados es un problema ambiental importante en la actualidad. Varias estrategias que involucran procesos biológico, físico-químico, y los procesos térmicos se han desarrollado para remediar sitios contaminados (Bustamante *et al.*, 2012).

En el caso del suelo, los hidrocarburos impiden el intercambio gaseoso con la atmosfera, iniciando una serie de procesos físico-químicos simultáneos, como evaporación y penetración, que dependiendo del tipo de hidrocarburo, temperatura, humedad, textura del suelo y cantidad vertida pueden ser procesos más o menos lentos lo que ocasiona una mayor toxicidad. Además de tener una moderada, alta o extrema salinidad, lo que dificulta su tratamiento, debido a que altos gradientes de salinidad pueden destruir la estructura terciaria de las proteínas, desnaturalizar enzimas y deshidratar células, lo cual es letal para muchos microorganismos usados para el tratamiento de aguas y suelos contaminados (López *et al.*, 2006a).

El número de sitios contaminados, aún en las estimaciones más conservadoras, asciende a varios miles de lugares cuyo riesgo potencial es desconocido. De acuerdo con datos publicados por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (2000), la superficie de suelo degradado por causas de contaminación en 1999 fue de 25,967 km². Todos los eventos en los que se encuentran involucradas sustancias que implican algún riesgo para el ambiente o la población y que puedan generar la contaminación de suelos y cuerpos de agua, son conocidos como emergencias ambientales. De acuerdo con estadísticas de la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA), cada año se presentan en México un promedio de 550 emergencias ambientales asociadas con materiales y residuos peligrosos. Dentro de los compuestos peligrosos más

comúnmente involucrados en emergencias ambientales, se encuentran el petróleo y sus derivados (gasolinas, combustóleo, diesel), agroquímicos, gas LP y natural, entre otros (Volke y Velasco, 2002).

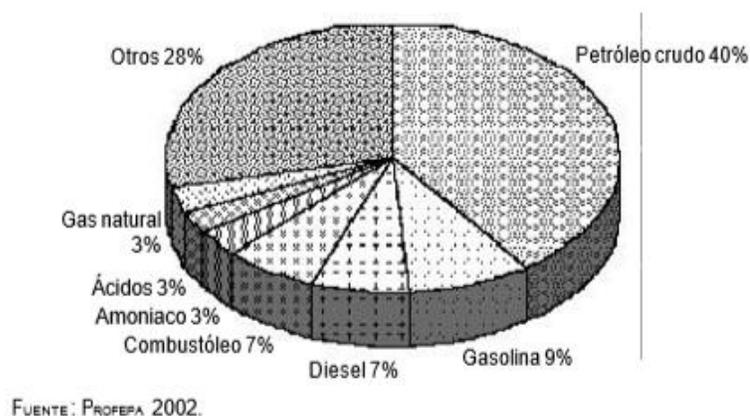


Figura 2. Principales sustancias involucradas en emergencias ambientales reportadas a la PROFEPA entre 1997 y 1999 (Volke y Velasco, 2002).

2.2.3 Situación en México.

La principal causa de la contaminación del aire, el agua y el suelo es la liberación de hidrocarburos en el medio ambiente ya sea accidental o debido a actividades humanas (Holliger et al., 1997).

La presencia de hidrocarburos contaminantes en los suelos se debe principalmente a, derrames accidentales en instalaciones de la industria del petróleo. Los suelos afectados pueden filtrar los hidrocarburos hacia los acuíferos ocasionando la contaminación del agua subterránea, aumentando así la dificultad para resolver el problema, e inclusive contaminando zonas habitacionales establecidas. El interés por el estudio de suelos contaminados va en aumento,

apenas se están identificando los lugares con mayor índice de contaminación. México cuenta con grandes depósitos de hidrocarburos localizados en zonas bien identificadas, en la mayoría de estas regiones se han instalado diferentes tipos de industrias para la explotación y refinación del petróleo; son cuantiosos los estragos ambientales y la destrucción de los ecosistemas que han provocado dichas industrias. Sin embargo, lo que complica la problemática actual de los sitios contaminados con hidrocarburos, es que hasta hace pocos años, prácticamente no existía una conciencia del grado de dificultad y del enorme costo de la remediación de suelos, cuerpos de agua y atmosfera contaminados, lo que representa hoy para la sociedad un gran costo económico. Dicha contaminación está ocasionando el deterioro progresivo de la calidad del medio ambiente y genera una amenaza real a la salud pública, así como la extinción de gran cantidad de especies vegetales y animales (López *et al.*, 2006a). La contaminación por hidrocarburos puede causar daños recreativo, económico y estético a la vida humana y acuática. Los hidrocarburos de petróleo son los principales contaminantes en el medio ambiente, ya que provocan daños a los ecosistemas circundantes (Pankja y Vivek, 2012; Chandraja *et al.*, 2014).

2.2.4 Legislación ambiental en materia de hidrocarburos.

La LGEEPA menciona las actividades que pueden causar desequilibrio ecológico particularmente para las actividades petroleras debido a obras hidráulicas, vías de comunicación, oleoductos, gasoductos y barbotuctos.

La LGEEPA establece los aspectos para atender la contaminación del suelo con 11 artículos, destacando los criterios de prevención y control de la contaminación, alteración nociva en el proceso biológico de los suelos, los riesgos y problemas de salud, y el control de los residuos. Si existe la presencia de materiales o residuos peligrosos deberán llevarse a cabo acciones necesarias para recuperar o restablecer las condiciones del sitio, evitar su acumulación y se depositen o

infiltran en los suelos, así como realizar el, manejo y disposición final de los mismos (Ortínez *et al.*).

2.3 Biodegradación.

La biodegradación es la capacidad metabólica de los microorganismos para transformar o mineralizar contaminantes orgánicos en a sustancias menos perjudiciales, no peligrosos, que se integran en los ciclos biogeoquímicos naturales. La intensidad de la biodegradación está influenciada por varios factores, tales como nutrientes, oxígeno, valor de pH, la composición, la concentración y la biodisponibilidad de los contaminantes, características químicas y físicas y la historia de la contaminación del medio ambiente contaminado (Margesin y Schinner, 2001). La biodegradación de un compuesto es a menudo un resultado de las acciones de múltiples organismos (Kuma *et al.*, 2011).

2.3.1 Características del hidrocarburo contaminante.

Las características del contaminante es uno de los factores que definen el tipo de tratamiento que se requiere para la descontaminación. Los hidrocarburos se componen por elementos hidrofóbicos, poco solubles en agua. A medida que aumenta el número de átomos de carbono en la estructura y la conjugación en los compuestos aromáticos, disminuye la solubilidad. Los hidrocarburos sustituidos por grupos polares (alcoholes, ácidos, etc.) son más solubles. La solubilidad del hidrocarburo afecta su bio disponibilidad. Esta puede estar limitada además si el contaminante tiene alguna barrera física o química que impide el paso de la molécula al interior celular para ser metabolizada (Nápoles y Ávalos, 2008). La viscosidad también dificulta la interacción contaminante-nutriente-bacteria-aceptores de electrones. La presencia de componentes tóxicos o inhibidores del crecimiento microbiano también afecta la interacción del contaminante, y la volatilidad no impide la biodegradación (López *et al.*, 2006a).

2.3.2 Biodegradación de hidrocarburos.

La biodegradación de hidrocarburos es un proceso natural que demora meses o años según las condiciones, la complejidad molecular de sus componentes y la acumulación. La biodegradación de contaminantes depende de factores abióticos o físico-químicos que agrupan a los que se relacionan con el contaminante (estructura química, concentración y bio disponibilidad) y las condiciones medioambientales (disponibilidad de oxígeno y nutrientes, pH, temperaturas, presión, salinidad, presencia de metales pesados); mientras que los bióticos dependen de los microorganismos (población microbiana: concentración e interacciones) (Atlas y Bartha, 1972). La biodegradación de los diferentes compuestos de petróleo se produce simultáneamente, pero a diferentes velocidades debido a que diferentes especies de microbios atacan preferentemente compuestos diferentes (Thapa *et al.*, 2012). El metabolismo microbiano juega un papel muy importante en la degradación o desintoxicación de los residuos en el medio ambiente (Fang *et al.*, 2013)

2.3.3 Factores que influyen en la biodegradación de hidrocarburos de petróleo.

La aplicación exitosa de la tecnología de biorremediación para sistemas contaminados requiere el conocimiento de las características del lugar y de los parámetros que afectan la biodegradación microbiana de contaminantes. Sin embargo, un número de factores limitantes han sido reconocidos para afectar la biodegradación de hidrocarburos de petróleo (Sabaté *et al.*, 2003).

La composición y la biodegradabilidad inherente del contaminante de hidrocarburos de petróleo, por lo tanto, es la primera y más importante consideración cuando la idoneidad de un enfoque de limpieza se va a evaluar (Okoh, 2006).

La temperatura juega un papel muy importante en la biodegradación de hidrocarburos de petróleo, en primer lugar por su efecto directo sobre la química de los contaminantes, y en segundo lugar en su efecto sobre la fisiología y la diversidad del entorno microbiano. La temperatura ambiente de un entorno afecta tanto a las propiedades del aceite derramado y la actividad o población de microorganismos (Atlas, 1981).

2.3.4 La distribución de hidrocarburos de petróleo utilizando microorganismos.

Para la degradación es necesario que las bacterias y los contaminantes deben estar en contacto. Esto no es fácil de lograr, ya que ni los microbios ni los contaminantes están distribuidos uniformemente en el suelo (Kuma *et al.*, 2011).

Bacterias y hongos que degradan hidrocarburos están ampliamente distribuidos en los hábitats marinos, de agua dulce, y del suelo. Del mismo modo, se ha informado de hidrocarburos degradar cianobacterias, aunque los informes contrastantes indicaron que el crecimiento de las esteras construidas por cianobacterias en la costa saudita llevado a la preservación de los residuos de hidrocarburos. Los grupos bacterianos típicos ya conocidos por su capacidad para degradar los hidrocarburos incluyen *Pseudomonas*, *Marinobacter*, *Alcanivorax*, *Microbulbifer*, *Sphingomonas*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Dietzia*, y los grupos de *Gordonia* (Brito *et al.*, 2006). Moldes pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Amorphoteca*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Talaromyces*, *Graphium* y las levaduras *Candida*, *Yarrowia* y *Pichia* han sido implicados en la degradación de hidrocarburos. Sin embargo, los informes en la literatura sobre el número real de utilizadores de hidrocarburos están en desacuerdo entre sí debido a las diferencias metodológicas utilizadas para enumerar los microorganismos que degradan el petróleo (Okoh, 2006).

2.3.5 Aspectos genéticos de la degradación de hidrocarburos de petróleo.

Nuevas metodologías han permitido estudios recientes sobre los mecanismos de biodegradación microbiana de los contaminantes orgánicos. Técnicas independientes del cultivo para el análisis del potencial genético y metabólico de las comunidades microbianas naturales y modelo que degradan los contaminantes orgánicos han identificado nuevas vías y enzimas metabólicas para la degradación aeróbica y anaeróbica. Los factores genéticos juegan un papel importante en conferir potencial de biodegradación de los microorganismos (Okoh, 2006).

2.4 Biotecnología Ambiental.

La biotecnología ambiental surge entre los siglos XIX y XX para el tratamiento de aguas residuales urbanas. En la segunda mitad del siglo XX, se extendió a la remediación de suelos, la purificación de gases, el saneamiento de aguas superficiales y subterráneas, la purificación de aguas residuales industriales, las técnicas de deposición de residuos en vertederos sanitarios y compostaje de residuos biorgánicos. La biotecnología ambiental emplea los procesos biológicos modernos en la protección y restauración de la calidad del ambiente. Esta surgió como una solución a muchos de los problemas de contaminación actual: se puede evaluar el estado de los ecosistemas, transformar los contaminantes en sustancias no tóxicas, generar materiales biodegradables a partir de recursos renovables y desarrollar procesos de manufactura y manejo de desechos ambientalmente seguros. Esta disciplina científica aplicada abarca cualquier aplicación destinada a reducir la contaminación, con la utilización de microorganismos para la generación de combustibles y de plantas modificadas genéticamente para la absorción de sustancias tóxicas. Actualmente, la principal aplicación de la biotecnología ambiental es la biorremediación, considerada como una tecnología emergente (Yaima, 2011). En la naturaleza existen diversos hongos, bacterias y microorganismos que están constantemente trabajando para descomponer compuestos orgánicos, pero surge la pregunta cuando se produce la contaminación, que va a hacer este trabajo de limpieza. Dado que la calidad de vida está íntimamente ligada a la calidad general del medio ambiente, la atención

mundial se ha centrado en formas de mantener y preservarlo. Este esfuerzo es posible gracias a la participación de la biotecnología. Los tipos de contaminantes con los que los investigadores de Biotecnología Ambiental tienen experiencia incluyen disolventes clorados, hidrocarburos de petróleo, hidrocarburos aromáticos polinucleares, cetonas, TNT, nitrógeno inorgánico (NO_3 , NH_4), Tt., Pu, Np, Cr, U y otros metales pesados (Kuma *et al.*, 2011).

2.5 Biorremediación.

El término inglés *bioremediation*, que en español se traduce como biorrestauración, se refiere a los tratamientos con sistemas biológicos para la restauración o limpieza de suelos, aguas subterráneas y aire contaminados con xenobióticos. Técnicamente el anglicismo biorremediación es aceptado y más utilizado. Puede definirse entonces como biorremediación: una tecnología de biorrestauración de ambientes naturales previamente contaminados con xenobióticos por eliminación, atenuación o transformación de estos compuestos, con el empleo de la capacidad metabólica de los microorganismos (bacterias, hongos, levaduras y algas) y algunas plantas, oxígeno y nutrientes, para acelerar los procesos de biodegradación natural (Yaima, 2011).

La biorremediación se puede definir como cualquier proceso que utiliza microorganismos o sus enzimas para volver el medio ambiente alterado por contaminantes a su condición original. La biorremediación puede ser empleada para atacar contaminantes específicos, como los pesticidas clorados que son degradados por bacterias, o un enfoque más general puede ser tomado, como los derrames de petróleo que se descomponen utilizando múltiples técnicas, incluyendo la adición de fertilizantes para facilitar la descomposición de petróleo crudo por bacterias. No todos los contaminantes son tratados fácilmente mediante el uso de la biorremediación; los metales pesados como el cadmio y el plomo no son absorbidos o capturados fácilmente por organismos. La biorremediación es una opción que ofrece la posibilidad de destruir o hacer varios contaminantes inofensivos mediante la actividad biológica natural (Kuma *et al.*, 2011). La

biorremediación se define como el proceso mediante el cual los microorganismos son estimulados para degradar rápidamente los contaminantes orgánicos peligrosos a niveles seguros para el medio ambiente en suelos, sedimentos, sustancias, los materiales y el agua subterránea. Recientemente, el proceso de remediación biológica también se ha ideado para precipitar e inmovilizar efectivamente los contaminantes inorgánicos como los metales pesados. La tecnología de biorremediación utiliza microorganismos para reducir, eliminar o transformar los contaminantes presentes en suelos, sedimentos o agua. La biorremediación depende de la presencia de microorganismos específicos en las cantidades correctas y su combinación en las condiciones ambientales adecuadas. Los microorganismos que viven en ambientes contaminados están a menudo bien adaptados para sobrevivir en la presencia de contaminantes existentes, la temperatura, el pH y el potencial de oxidación / reducción del sitio (Pandey y Fulekar, 2012).

Los microorganismos utilizados para realizar la función de la biorremediación son conocidos como biorremediadores (Sharma, 2012).

2.5.1 Proceso de biorremediación.

El proceso de biorremediación mejora la velocidad microbiana natural en la degradación de contaminantes completándolo con microorganismos con nutrientes, fuentes de carbono o donantes de electrones. Esto se puede hacer mediante el uso de microorganismos nativos o añadiendo un cultivo enriquecido de microorganismos que tienen características específicas que les permiten degradar el contaminante deseado a una velocidad más rápida (Sharma y Fulekar, 2009).

2.5.2 Tipos de biorremediación.

La biorremediación del suelo, puede ser dividida en estrategias *in situ* y *ex situ*. *In situ* corresponde a la biorremediación referente a tratamientos que no requieren

excavación del suelo contaminado; *ex situ* es un método donde se excava el suelo o el material a tratar y se le maneja en un sistema controlado como una celda de landfarming o en tipo de biorreactor. Las técnicas de biorremediación *in situ* presentan una mayor ventaja sobre las *ex situ* por el menor costo y la disminución de la generación de residuos a eliminar en la superficie. La biorremediación *in situ* es la más aplicada y utiliza microorganismos autóctonos, estos en el suelo pueden degradar un gran número de constituyentes de lodo pero su eficacia y su población son afectadas cuando algunos contaminantes tóxicos están presentes en altas concentraciones. La reintroducción de microorganismos aislados de un sitio contaminado ayuda a resolver este problema ya que los microorganismos pueden degradar los constituyentes y tiene una gran tolerancia a la toxicidad (López *et al.*, 2006b).

2.5.3 Estrategias de biorremediación.

Se clasifican en tres tipos fundamentales: 1.-la bioestimulación, que es la adición de nutrientes para potenciar la actividad metabólica de la microbiota degradadora autóctona; 2.-la bioaumentación, que es la adición de microorganismos degradadores exógenos cuando la proporción de la microbiota degradadora autóctona es muy reducida; y 3.-la bioaumentación con microorganismos modificados genéticamente, tecnología prácticamente exclusiva de países desarrollados. La obtención de productos mediante técnicas de ADN recombinante para potenciar vías degradativas específicas para fines de biorremediación es cara, aunque muy eficiente (Yaima, 2011).

2.5.4 Ventajas y Desventajas.

Como todo proceso tecnológico, la biorremediación tiene ventajas y desventajas. Una ventaja importante es su bajo costo en relación con otros tratamientos. Es difícil hacer una comparación de costos, porque es necesario conocer las características de cada sitio en particular, pero en términos generales se puede

decir que la biorremediación es por lo menos diez veces más económica que la incineración, y tres veces más económica que algunas tecnologías físico-químicas de inmovilización. Ello está dado por varios factores, como un menor gasto de energía, bajo costo de los nutrientes y la operación bajo condiciones ambientales, que hace que su uso sea muy práctico para los países en vías de desarrollo (Dual *et al.*, 2002). Por otra parte, es una tecnología limpia, ya que los contaminantes pueden ser transformados hasta compuestos inocuos como el dióxido de carbono. Las desventajas de la biorremediación consisten principalmente en que no se puede aplicar en el campo cuando hay compuestos radioactivos, cuando los compuestos orgánicos contaminantes son altamente halogenados, cuando existen metales pesados que inhiben la actividad microbiana o cuando las condiciones microambientales son desfavorables. Debido a que cada microorganismo tiene sus características, la tolerancia que presentan ante cada situación es muy particular. También pueden ocurrir fenómenos de inhibición de la actividad microbiana a concentraciones muy altas de contaminantes orgánicos (López *et al.*, 2006a).

2.6 Fitorremediación.

La fitorremediación implica la acción de varios procesos que utilizan plantas y los microorganismos asociados a su rizósfera para remediar ambientes contaminados principalmente suelo y agua - mediante la remoción, transformación, degradación o estabilización de contaminantes orgánicos e inorgánicos (Peralta y Volke, 2012). La fitorremediación es una técnica rentable favorable al medio ambiente sostenible para la remediación de contaminantes en el suelo, el agua y los sedimentos. Esto implica el uso de las plantas para eliminar, de transferencia, estabilizar y / o degradar contaminantes en el suelo, sedimentos y agua. Es un enfoque de bajos insumos en función de la atenuación natural de los mecanismos de biodegradación y físico-químicos que disminuyen la concentración de contaminantes (Prabha *et al.*, 2014).

Otra ventaja es que la fitorremediación se lleva a cabo *in situ*, contribuyendo a su costo relativamente bajo y la limitación de la exposición humana y ambiental a los contaminantes; la fitorremediación es popular, porque se percibe como una tecnología limpia y verde (Stephenson y Black, 2014). La fitorremediación se puede clasificar en diferentes aplicaciones, tales como fitofiltración o rizofiltración, fitoestabilización, fitovolatilización, fitodegradación, y fitoextracción (Ahmadpour *et al.*, 2012)

2.6.1 Fitoextracción.

Utiliza plantas o algas para eliminar los contaminantes de suelos, sedimentos o el agua en la biomasa vegetal aprovechable. La fitoextracción ha estado creciendo rápidamente en popularidad en todo el mundo durante los últimos veinte años más o menos. Generalmente, este proceso se ha tratado con más frecuencia para la extracción de metales pesados que para productos orgánicos. En el momento de la eliminación, los contaminantes se concentran típicamente en el volumen mucho menor de la materia vegetal que en el suelo o sedimento contaminado inicialmente. Las plantas absorben los contaminantes a través del sistema radicular y los almacenan en la biomasa de las raíces y / o los transportan hasta en los tallos y / las hojas. Una planta viva puede seguir absorbiendo los contaminantes hasta que se cosecha. Después de la cosecha, un nivel inferior del contaminante permanecerá en el suelo, por lo que el ciclo de crecimiento / cosecha generalmente debe repetirse a través de varios cultivos para lograr una limpieza significativa. Después del proceso, el suelo limpio puede soportar otro tipo de vegetación (Sulmon *et al.*, 2007).

2.6.2 Fitotransformación.

En el caso de los contaminantes orgánicos, como los plaguicidas, explosivos, solventes, productos químicos industriales, y otras sustancias xenobióticas, ciertas plantas, como las algas, hacen estas sustancias no tóxicas por su metabolismo.

En otros casos, los microorganismos que viven en asociación con raíces de las plantas pueden metabolizar estas sustancias en el suelo o el agua. Estos compuestos complejos y recalcitrantes no se pueden dividir a las moléculas básicas (agua, dióxido de carbono, etc.) de las moléculas de la planta, y de ahí el término fitotransformación que representa un cambio en la estructura química sin ruptura completa del compuesto (Cao *et al.*, 2008).

2.6.3 Rizofiltración.

Es similar en concepto a fitoextracción pero tiene que ver con la remediación de aguas subterráneas contaminadas en lugar de la remediación de suelos contaminados. Los contaminantes se adsorben ya sea sobre la superficie de la raíz o son absorbidos por las raíces de las plantas. Las plantas utilizadas para rizofiltración no se plantan directamente in situ, pero están aclimatadas al contaminante primero. Las plantas son cultivadas en hidroponía agua limpia en lugar de suelo, hasta que ha desarrollado un sistema radicular grande. Una vez que un sistema radicular grande está en su lugar, el suministro de agua se sustituye por un suministro de agua contaminada para aclimatar la planta. Después de que las plantas aclimatadas se plantan en la zona contaminada, donde las raíces absorben la contaminación del agua y los contaminantes a lo largo de la misma. Como las raíces se saturan, se cosechan y se eliminan de manera segura. Los tratamientos repetidos del sitio pueden reducir la contaminación a niveles adecuados, como se ejemplifica en *Helianthus annuus* que fueron cultivados en piscinas contaminadas radiactivamente (Prasad *et al.*, 2010).

2.6.4 Fitoestabilización.

Es el uso de ciertas plantas para inmovilizar los contaminantes del suelo y el agua. Los contaminantes se absorben por las raíces, se adhieren sobre las raíces, o se precipitan en la rizósfera. Esto reduce o incluso impide la movilidad de los contaminantes se previene la migración de estos en el agua subterránea o en el

aire, y reduce la biodisponibilidad del contaminante así se evita la propagación a través de la cadena alimentaria. Esta técnica también se puede utilizar para volver a establecer una comunidad de plantas en los sitios que han sido despojados debido a los altos niveles de contaminación por metales. Una vez que se ha establecido una comunidad de especies tolerantes, el potencial de erosión eólica (y por lo tanto la propagación del contaminante) se reduce y la lixiviación de los contaminantes del suelo se reduce (Prasad *et al.*, 2010).

2.6.5 Fitodegradación.

Es la degradación o descomposición de los contaminantes orgánicos mediante procesos metabólicos internos y externos accionados por la planta. Los procesos metabólicos en la planta hidrolizan los compuestos orgánicos en unidades más pequeñas que pueden ser absorbidos por la planta. Algunos contaminantes pueden ser absorbidos por la planta y luego son descompuestos por algunas enzimas de las plantas. Estas moléculas de los contaminantes más pequeños pueden entonces ser usados como metabolitos por la planta a medida que crece, quedando así incorporado en los tejidos de la planta (Singh y Jain, 2003).

2.6.6 Rizodegradación.

Fitoestimulación o rizodegradación, es cuando las plantas generan los exudados radiculares que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos capaces de degradar compuestos orgánicos xenobióticos (López-Martínez *et al.*, 2005).

Este mecanismo se refiere a la degradación de contaminantes orgánicos por acción de interacciones planta-microorganismos en la región de rizósfera; principalmente puede aplicarse cuando los sitios se encuentran contaminados con hidrocarburos y bifenilos policlorados (Muñoz *et al.*, 2015).

2.6.7 Fitovolatilización.

La fitovolatilización se produce a medida que los árboles y otras plantas en crecimiento absorben agua junto con contaminantes orgánicos e inorgánicos. Algunos de estos pueden llegar hasta las hojas y evaporarse o volatilizarse en la atmósfera. Mediante este proceso se han eliminado contaminantes como: compuestos orgánicos volátiles (benceno, nitrobenceno, tolueno, etilbenceno y mxileno), As, Se y Hg (Delgadillo *et al.*, 2011).

2.6.8 Ventajas de la fitorremediación.

La fitorremediación es una estrategia de bajo costo y eficaz para limpiar suelos contaminados sin necesidad de herramientas de alto costo y recursos humanos especializados. Como la tecnología verde, que es aplicable a diferentes tipos de contaminantes orgánicos e inorgánicos y proporciona beneficios estéticos para el medio ambiente mediante el uso de árboles y la creación de zonas verdes, que es social y psicológicamente beneficios para todos (Gosh y Singh, 2005). Esta tecnología verde es adecuados para grandes áreas en las que otros enfoques sería costoso e ineficaz (Vidali, 2001). Además, como un enfoque práctico para la descontaminación de suelo y agua, los residuos pueden ser reutilizados con el mínimo daño al medio ambiente. Además, la expansión de contaminantes al aire y al agua se reduce mediante la prevención de la lixiviación y la erosión del suelo que puede resultar de la actividad de agua y el viento (Privetz, 2015).

2.6.9 Desventajas de la fitorremediación.

El tiempo es la limitación más grave de la fitorremediación, ya que este enfoque puede requerir varios años para la remediación efectiva. Por otra parte, la preservación de la vegetación en las zonas muy contaminadas se complica y la salud humana también podría verse amenazada al entrar el contaminante en la cadena alimentaria a través de los animales que se alimentan de las plantas

contaminadas. Esta tecnología no es impresionante cuando sólo una pequeña parte del contaminante es biodisponible para las plantas en el suelo (Kajakaruna *et al.*, 2006). Además de eso, que se limita a las áreas bajas o medianamente contaminados cerrados por el distrito de la raíz de la planta (Gosh y Singh, 2005).

2.6.10 Función de la planta en la fitorremediación de hidrocarburos totales del petróleo.

Diversos estudios han demostrado que la degradación de los HTP y sus componentes (hidrocarburos alifáticos, policíclicos, fenólicos y otros) es más rápida en suelos donde existe vegetación creciendo activamente, que en suelos donde sólo existen microorganismos o suelos estériles además, se ha observado que la toxicidad remanente de los suelos recuperados por fitorremediación es menor que la de aquéllos recuperados por otros tratamientos (Peña *et al.*, 2006).

2.7 Girasol (*Helianthus annuus* L.).

2.8 Taxonomía y Morfología.

El girasol es una planta anual, de gran desarrollo en todos sus órganos. Pertenece a la familia *Asteraceae* y al género *Helianthus*, el cual comprende aproximadamente 68 especies que se encuentran en Norteamérica, donde el más importante es *Helianthus annuus* (Aguilar, 2013).

El nombre científico del género (*Helianthus*), así como los que dan nombre a la planta en otros idiomas, aluden generalmente a la forma y aspecto de la inflorescencia o capítulo donde nacen las flores y que corona la planta por su parecido a un sol. Así el término griego *helios*, significa sol, y *anthos* flor. El nombre de la especie (*annuus*) alude a la característica de anualidad del ciclo vegetativo - reproductivo de la planta (Alba y Llanos, 1990).

2.9 Ciclo del girasol.

La longitud del ciclo del girasol depende, como en otras especies vegetales, para una variedad determinada, principalmente de la temperatura y del número de horas de luz al día (fotoperíodo), aunque de este último factor se sabe todavía muy poco. Las variedades de ciclo largo más comúnmente utilizadas presentan ciclos de hasta ciento sesenta días entre siembra y recolección, pero en siembras tardías este mismo período puede acortarse hasta ciento veinte días o menos (Gómez-Arnau, 2015).

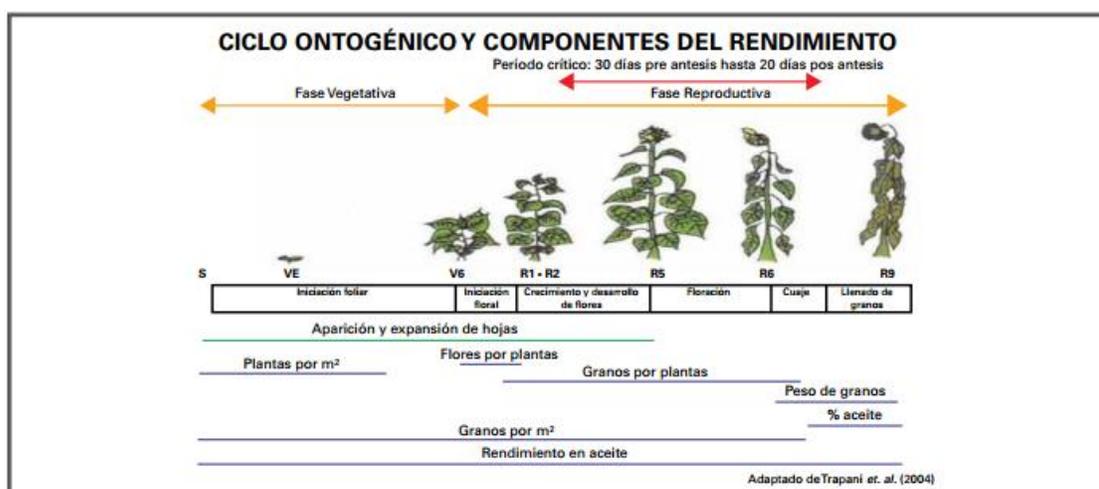


Figura 3. Ciclo ontogénico y componentes del rendimiento del girasol (Pioneer, 2015).

2.10 Descripción Técnica.

2.10.1 Luz.

La luz influye en su crecimiento y desarrollo, y su influencia varía en las diferentes etapas del desarrollo del cultivo.

Al principio, en la formación de las hojas, el fotoperiodo, acelera o retrasa el desarrollo del girasol, si la duración del día es corta, los tallos crecen muy alargados y la superficie foliar disminuye. Muchos cultivares pueden adelantar o retrasar más de 15 días la fecha de floración como respuesta al fotoperiodo.

La densidad de plantas influye en la formación y productividad del aparato fotosintético. En densidades altas se demora la formación de las hojas de los niveles superiores y de este modo disminuye su participación en la actividad fotosintética general, sobre todo en las últimas fases de vegetación. La densidad de plantas influye en forma considerable en la radiación fotosintetizante activa (Aguilar, 2013)

2.10.2 El agua.

Es una planta con una elevada capacidad para absorber agua, tanto es así que en las extensiones pantanosas de Holanda se han utilizado para desecar terrenos y contribuir a ganar tierra al mar (Aguilar, 2013).

2.10.3 El suelo.

El girasol explora muy bien el terreno, aprovechando los elementos nutritivos disponibles, extrayendo cantidades relativamente importantes de nitrógeno, fósforo y potasio y agotando en muchos casos suelos bien provistos.

El girasol no es muy tolerante en cuanto a salinidad, estando su rango de tolerancia entre 2 y 4 mmhos/cm (en términos de conductividad eléctrica de extracto de saturación del suelo a 25°C) (Alba y Llanos, 1990).

El girasol no es una planta muy sensible a variaciones del pH en el suelo, tolera suelos con pH que van desde 5,8 hasta más de 8. En los suelos neutros o alcalinos no suelen aparecer problemas de tipo nutricional. Un exceso de alcalinidad puede ocasionar problemas de deficiencia de hierro, pero no es frecuente (Aguilar, 2013).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización y descripción del sitio.

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro dentro del Jardín botánico-UL “Jersey Rzedowski Rotter” de la ciudad de Torreón Coahuila México, con una localización de 25°33’18.67” N y 103°22’28.49” O, teniendo una elevación de 1123^a sobre el nivel del mar. Durante el período de junio a noviembre de 2015.

3.2 Variables del suelo y suelo mezclado con estiércol medidas en laboratorio.

Se obtuvieron dos muestras de suelo del jardín botánico. Estas muestras sirvieron para efectuar un análisis en el laboratorio del suelo.

Se evaluaron las siguientes variables en el suelo: Materia Orgánica (Paneque *et al.*, 2010), textura (Nuñez, 2006), Fósforo (Paneque *et al.*, 2010), Nitrógeno (Brown y Sallee, 1977), pH, Conductividad Eléctrica y carbonatos.

Las mismas variables fueron evaluadas en dos muestras de suelo mezclado con estiércol de conejo.

Los materiales que se utilizaron son:

- Potenciómetro Orion® 420^a.
- Agitador de acción Reciproca Eberbach®.
- Espectrofotometría SQ 118 Merck®.
- Balanza analítica Sartorius A2005.
- Digestor Kjeldahl LABCONCO®.
- Conductímetro 162 Oion®.
- Extractor Itemsa®.

3.3 Material biológico

Se trabajó con semillas de Girasol (*Helianthus annuus* L.), que se pusieron a germinar el 04 de septiembre de 2015, en las macetas que contenían 4 kg de suelo mezclado con estiércol de conejo en distintas cantidades a una profundidad de 0 a 10 cm.

3.4 Diseño experimental

Se organizaron los siguientes tratamientos: el tratamiento 1, el T2 y el T3 con suelo y estiércol a los que se les aplicó 50 ml, 100 ml y 150 ml de gasolina respectivamente. El tratamiento 4 al igual que los anteriores contuvo suelo y estiércol pero no se le aplicó gasolina, siendo el testigo 1. El tratamiento 5 solo contuvo suelo y tampoco se le aplicó gasolina siendo el testigo 2. Para cada tratamiento se requirieron 4 repeticiones. En total fueron 20 macetas las que se emplearon en este experimento.

3.5 Variables a evaluar en plantas

Las variables evaluadas en las plantas fueron:

Altura, tamaño de hojas y cantidad de hojas. Realizándose dichas evaluaciones antes y después de las aplicaciones de la gasolina.

3.6 Análisis de variables evaluadas

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Peso total del suelo de las macetas

Cuadro 1. Peso total de las macetas. Preparadas con suelo y estiércol (Kg).

Repeticiones	Tratamientos				
	T1	T2	T3	T4	T5
1	4.54 Kg	4.54 Kg	4.54Kg	4.55 Kg	4 k
2	4.54 Kg	4.54Kg	4.54 Kg	4.54 Kg	4 K
3	.4.54 Kg	4.54 Kg	4.54 Kg	4.54 Kg	4 K
4	4.54 Kg	4.54 Kg	4.54 Kg	4.54 Kg	4 K

El peso del suelo siempre fue de 4 kg (T5), variando el peso del estiércol en cada maceta de girasol. La variación del peso total de las macetas fue poco significativa, la variación fue a nivel de milésimas y diezmilésimas (Cuadro 1).

4.2 Variables medidas en el suelo

Cuadro 2. Características físicas y químicas del suelo preparado con estiércol (T1 a T4) y suelo sin estiércol (T5) en el Jardín botánico-UL “Jersey Rzedowski Rotter” de la UAAAN UL. Junio- Noviembre de 2015.

Tratamientos	1	2	3	4	5*
Variables					
Mat. Orgánica %	9.21	10.69	9.5	10.3	0.282
pH	7.10	7.23	7.15	7.20	8.0
Textura	Franco migajón	Franco arenoso	Franco arenoso	Franco arenoso	Franco limoso
CE mS/cm	0.015	0.01	0.01	0.01	0.013
Fósforo ppm	293	372	315	298	14
Nitrógeno %	1.81	1.80	1.79	1.81	1.37
Carbonatos meq/lto.	0.24	1.37	0.35	0.25	0.08

*suelo sin estiércol

En el Cuadro 2 se puede ver que los tratamientos de suelo con estiércol presentaron mayor concentración de materia orgánica que los suelos sin estiércol, debido a la elevada presencia de materia orgánica muerta en las heces fecales del conejo. Los tratamientos T1 al T4 que contienen estiércol indica que es muy rico en materia orgánica, mientras que el tratamiento T5 que solo tiene suelo sin estiércol se encuentra muy pobre en M.O.

El Cuadro 2 muestra que el pH del suelo con estiércol fue prácticamente neutro, mientras que el suelo sin estiércol fue alcalino, lo cual significa que existe un mayor equilibrio entre bases y ácidos en el suelo con estiércol. El pH obtenido indica que el girasol tolera suelos con pH que van desde 5.8 hasta más de 8

(Aguilar, 2013). El rango de pH recomendado para que se lleve a cabo una buena degradación de hidrocarburos en suelos se encuentra entre 5 y 9, con un óptimo en 7 (Volke y Velasco, 2013). (Alba y Llanos, 1990) mencionan que en los suelos neutros o alcalinos no suelen aparecer problemas de tipo nutricional. Un exceso de alcalinidad puede ocasionar problemas de deficiencia de hierro, pero no es frecuente.

El nitrógeno se encuentra asimilable en los suelos con un pH que varía de 5.0 a 8.3.

La textura obtenida fueron variadas (Franco Arenoso, Franco o Migajón y Franco limoso) en los tres tratamientos analizados, lo que menciona (Agrícolas, 1991) es que el girasol prospera en suelos arcillo arenosos, ricos en materia orgánica y permeables con drenaje superficial e interno, para evitar el encharcamiento y el nivel freático alto (Cuadro 2).

El girasol no es una planta muy exigente en cuanto a calidad del suelo se refiere. Crece bien en la mayoría de texturas, aunque prefiere terrenos arcillo - arenosos. Además no requiere una fertilidad tan alta como otros cultivos para obtener un rendimiento aceptable. Sí necesita, sin embargo un buen drenaje (Alba y Llanos, 1990)

La CE (conductividad eléctrica) es uno de los parámetros más utilizados para estimar la salinidad en suelos. Para distinguir suelos salinos de no salinos, se han sugerido varios límites arbitrarios de salinidad en función de los efectos que pueda tener en las plantas. En el Cuadro 2 se puede observar que se presentó una CE muy baja lo que significa que estos suelos no tienen problemas dados por exceso de sales y además se observó muy poca variación en los valores obtenidos tanto en los tratamientos con estiércol como sin estiércol, esto quiere decir que no afectó en la germinación y el desarrollo del girasol, en comparación de investigaciones realizadas con cultivos de tomate en Israel en donde se observó que el rendimiento del cultivo disminuye en un 10%, cuando se siembra en un suelo poco salino (CE = 2 mS/cm), mientras que en un suelo altamente salino (CE

= 9.5 mS/cm), el rendimiento del cultivo puede verse afectado hasta en un 50% (Volke y Velasco, 2013).

En relación al fósforo, los resultados demostraron que los valores calculados en suelos que tienen estiércol se presentaron datos elevados que variaron entre 293 y 372 ppm, mientras que en suelos sin estiércol (T5) presentaron un valor muy bajo de 14 ppm. Investigadores como (Bigler, 2015) mencionan que estudios demostraron que en una planta como el girasol es de esperarse respuesta a la aplicación de P cuando los niveles en el suelo se encuentran por debajo de 10 a 12 ppm. Por lo tanto, con la aplicación de estiércol de conejo no es necesario la aplicación de este nutriente. Algunos investigadores como (Torres, 2009) demostraron que la mayor concentración de nutrientes se acumulan en la flor que posteriormente darán lugar a la formación de semillas que constituyen el reservorio de nutrientes de la planta (Cuadro 2).

El nitrógeno es un elemento necesario para el crecimiento, diferenciación y desarrollo de sus órganos. Aunque los valores obtenidos de nitrógeno son algo semejantes, los suelos que contienen estiércol presentaron los datos más elevados. Los resultados variaron entre 1.79 % a 1.81 en suelos con estiércol mientras que en suelos sin estiércol el valor promedio fue de 1.37 %. Esto indica un nivel alto de nitrógeno en los suelos con estiércol. Según (Bigler, 2015) el cultivo del girasol demuestra una gran capacidad de aprovechamiento del nitrógeno (N).

4.3 Variables medidas en el girasol

Cuadro 3. Longitud de tallo (cm), tamaño de hojas (cm) y número de hojas del girasol con 39 días de edad antes de la aplicación de gasolina y 13 días después de la aplicación de gasolina. Noviembre de 2015.

Variables	Medidas tomadas antes de la aplicación de gasolina			Después de la aplicación de gasolina		
	Long. de tallo (cm)	Tamaño de hoja (cm)	Número de hojas	Long. de tallo(cm)	Tamaño de hoja (cm)	Número de hojas
T1	42.8	8.47	14.75	72.25	23.75	10
T2	40.5	6.52	12	43.75	25.75	8.3
T3	54.75	7.17	12.25	54	22	17.9
T4	41.6	7.87	14	80.5	28.75	14.57
T5	44	4.75	9	43.37	11.5	6.1

Antes de la aplicación de la gasolina. En términos generales el girasol que mejor crecimiento observó fue en los tratamientos T1 al T4, cuyo suelo estuvo mezclado con estiércol. Aunque en relación a la variable longitud del tallo el T5 presentó mayor altura que los T1, T2 y T4, a excepción del T3 que alcanzó un mayor crecimiento. En relación a la variable de la hoja y número de hojas los tratamientos T1 al T4 fueron los que mejores resultados presentaron posiblemente porque el suelo estuvo mezclado con estiércol mientras que el T5 que presentó los menores valores estuvo con suelo sin gasolina.

Después de la aplicación de la gasolina. A pesar de que transcurrieron 13 días después de que se aplicó gasolina, en términos generales las plantas continuaron su crecimiento. En relación a la variable longitud del tallo, los tratamientos T1, T2 y T3 a los cuales se les aplicó gasolina presentaron un crecimiento considerable a excepción del T2. Se debe mencionar que la cantidad de gasolina aplicada en el T3 fue mayor al T2. Los T1 y T3 a pesar de que contenían gasolina presentaron

un incremento mayor en altura que el T5 que solo presentaba suelo sin estiércol. El T4 que presentó suelo con estiércol pero que no se le aplicó gasolina fue el que mayor incremento presentó. El efecto del estiércol se observó que cuando no se aplicó gasolina mejoró el crecimiento del girasol, y aunque se le aplicara gasolina también se observó un crecimiento considerable. Posiblemente el efecto del estiércol fue ocasionado porque de alguna manera esto favoreció el desarrollo de microorganismos que tienen la capacidad metabólica de biodegradar la gasolina transformándola o mineralizándola en sustancias inocuas o menos perjudiciales, integrándolas en los ciclos biogeoquímicos naturales (Margesin y Schinner, 2001). En cuanto a grupos bacterianos típicos ya conocidos por su capacidad para degradar los hidrocarburos incluyen *Pseudomonas*, *Marinobacter*, *Alcanivorax*, *Microbulbifer*, *Sphingomonas*, *Micrococcus*, *Cellulomonas*, *Dietzia*, y los grupos de *Gordonia* (Brito *et al.*, 2006).

Moldes pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Amorphoteca*, *Neosartorya*, *Paecilomyces*, *Talaromyces*, *Graphium* y las levaduras *Candida*, *Yarrowia* y *Pichia* han sido implicados en la degradación de hidrocarburos.

Sin embargo, los informes en la literatura sobre el número real de utilizadores de hidrocarburos están en desacuerdo entre sí debido a las diferencias metodológicas utilizadas para enumerar los microorganismos que degradan el petróleo (Okoh, 2006).

En cuanto a las variables tamaño de hojas y número de hojas, el T2 presentó mayor tamaño de hojas que el T1 y el T3. En cuanto al número de hojas el T3 fue el que presentó mayor cantidad que el T1 y el T2. Este tratamiento tuvo más hojas pero más pequeñas. Comparando los tratamientos T4 (con estiércol) y T5 (sin estiércol) a ambos no se les aplicó gasolina. El T4 fue el que más impactó en la adaptación del girasol siendo importante el efecto positivo que el estiércol ocasionó. El tamaño y número de la hojas de la flor entran en el rango óptimo de un buen crecimiento, esto nos demuestra que se desarrollaron muy bien a pesar de estar en un suelo contaminado con hidrocarburos, aunque también hay

resultados que muestran que el girasol puede germinar y adaptarse a más altas concentraciones de Pb y algunos otros metales pesados (Gutiérrez *et al.*, 2011; López *et al.*, 2011).

4.4 Evolución de la adaptación del girasol después de la aplicación de la gasolina a los distintos tratamientos

Se esperó a que los girasoles tuvieran una altura adecuada para poder agregar la gasolina, lo cual se determinó 39 días después de que se sembró el girasol. La aplicación de la gasolina se hizo el martes 13 de octubre de 2015. Cuando se requirió fueron regadas las plantas.

Octubre 15 de 2015 (dos días después de la aplicación de la gasolina)

- El tratamiento T2 presenta tres plantas acamadas (dobladadas), del total de cuatro macetas. Las que se ven mejor estado son las del T3. Luego siguen las del T1, están marchitas pero vivas aun. Las que no tienen gasolina se ven bien aunque mejor las que tienen estiércol (T4) que las de suelo sin estiércol (T5)
- Hay una maceta del T2 que está en plena floración.

Octubre 16 de 2015 (tres días después de la aplicación de la gasolina).

- Del total de las cuatro macetas en los tratamientos T1 se ve una planta en buen estado erecta, otra se empieza acamar las demás están bien.
- El T2 las plantas están acamadas. Solo una erecta pero se empieza a acamar.
- T3 una erecta aunque algo marchita y dos ya marchitas y aun erectas y una acamada.
- T4 con estiércol se ven muy bien erectas y con hojas grandes. Solo a una que se le puso gasolina se comienza a marchitar. No hay floración aun
- El T5 (no tiene estiércol) casi no crecen se ven las hojas pequeñas. Hay dos en floración.

Octubre 19 de 2015 (seis días después de la aplicación de gasolina)

- El T1 las plantas se mantienen en buen estado
- T2 todas se acamaron
- T3 la maceta con la planta 2 se mantiene erguida terminó floración. Las hojas están secas en la maceta con la planta 4 permaneciendo la planta. Las flores están deshidratadas.
- T4 todas en pie y en buen estado. Hay tres macetas con plantas en floración.
- T5 están en pie pero frágiles plantas 1 y 2 están en floración. La planta 3 tiene un botón.

Octubre 26 de 2015 (13 días después de la aplicación de la gasolina). Última observación efectuada.

- T1 todas las macetas con plantas están secas a excepción de la maceta con la planta 4.
- T2 todas las macetas con las plantas caídas y aparentemente secas
- T3 la mayoría de las macetas con plantas están caídas y secas, aunque hay una sobreviviente. Todas llegaron a floración excepto la planta 1.
- T4 todas muy bien con hojas grandes vigorosas
- T5. Todas florecieron menos la planta 4 y la apariencia de las plantas es frágil con hojas pequeñas.

CAPÍTULO V.

CONCLUSIONES

Los resultados que se obtuvieron en el experimento se pudo observar que el Girasol (*Helianthus annuus* L.) se adaptó al suelo contaminado con el hidrocarburo (gasolina) esto se debió principalmente a que el estiércol ayudó en la adaptación de la planta, ya que gracias a esto se mejoraron las condiciones del suelo en cuanto a los nutrientes. Esto hizo que creciera y se desarrollara a pesar de las condiciones a las que fueron sometidas.

Los tratamientos de T1- T3 fueron a los que se aplicó gasolina. Sin embargo a pesar de que afectó el crecimiento de algunas de las plantas, éstas pudieron desarrollarse y se observó cierto crecimiento. Los mejores resultados se observaron en el T4 que presentó suelo mezclado con estiércol, comparándolo con el T5 que no tuvo estiércol solo suelo. Esto comprueba que el estiércol ejerció una influencia positiva que permitió que las plantas presentaran una mayor resistencia al daño que ejerce la gasolina sobre las plantas.

El T5 fue el que mostro bajo crecimiento y desarrollo ya que el suelo en el que se encontraba tenía bajo contenido de nutrientes debido a la ausencia de estiércol.

Hoy en día se tienen que implementar tecnologías verdes para la recuperación de sitios contaminados con algún hidrocarburo y poder así recuperarlos y remediarlos mediante este tipo de técnicas, ya que son muy accesibles, económicas y son la mejor opción que tenemos para poder disminuir y remediar un poco la contaminación que ha sido causada por los humanos. La fitorremediación es una técnica viable y eficiente y útil para la limpieza de suelos contaminados ya que la fitorremediación incluye interacciones complejas en donde participan la planta, el suelo y los contaminantes.

Finalmente se puede afirmar que es aceptada la hipótesis que se planteó al inicio de este trabajo.

CAPÍTULO VI.

LITERATURA CITADA.

- Agrícolas, D. G. d. I. y. E. (1991). Aspectos técnicos sobre cuarenta y cinco cultivos agrícolas de Costa Rica, La Dirección.
- Aguilar, J. 2013. "(En línea) El cultivo de girasol (*Helianthus annuus*) para flor cortada." Consejería de Agricultura, Agua y medio ambiente (<http://www.bionica.info/biblioteca/Melgares%202001%20girasol.PDF>): (consulta el 01 de junio del 2015).
- Ahmadpour, P., B. Ahmadpour, M. Mahmud, M. Solemani y F. Hosseni 2012. "La fitorremediación de metales pesados: Una tecnología verde." *African Journal of Biotechnology* 11: 14036-14043.
- Alba, A. y M. Llanos 1990. El cultivo del girasol. E. Mundiprensa
- Atlas, R. y R. Bartha 1972. "Estimulado biodegradación de las manchas de petróleo que utilizan fertilizantes oleófilos." *Environmental Science & Technology* 7.
- Atlas, R. 1981. "La degradación microbiana de los hidrocarburos del petróleo: una perspectiva ambiental." *Microbiological Reviews* 45: 180-209.
- Bigler, D. 2015. "(En línea) Consideraciones generales para el cultivo del girasol." Dow AgroScience Paraguay S.A (http://msdssearch.dow.com/PublishedLiteratureDAS/dh_0518/0901b80380518f26.pdf?filepath=py/pdfs/noreg/013-84001.pdf&fromPage=GetDoc): Consulta el 4 de junio del 2015.
- Bisht, S., V. Kumbar, M. Kumbar y S. Sharma 2014. "Tecnología inoculante en *Populus deltoides rizosfera* para la biorremediación de hidrocarburos poliaromáticos efectiva (PAHs) en suelos contaminados, norte de la India." *Plant Science*: 786-799.
- Botello, A. 2005. "(En línea) Características composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo. En: Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias." Universidad Autónoma de Campeche (<http://etzna.uacam.mx/epomex/publicaciones/contaminacion2/ContaminacionC3%B3nParte1.pdf>): (Consulta el 17 de abril del 2015) 261-268.
- Brown, G. y E. Sallee, Eds. (1977). Química Cuantitativa.
- Bustamante, M., N. Durán y M. Diez 2012. "Biotensioactivos son herramientas útiles para la biorremediación de suelos contaminados." *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 12: 667-687.
- Cao, L., M. Jiang, Z. Zeng, H. Tan y Y. liu 2008. "Trichoderma atroviride F6 mejora de la eficiencia fitoextractor de mostaza (*Brassica juncea* (L.) Coss. Var.

- Foliosa Bailey) en Cd, Ni contaminado suelos." *Chemosphere* 71: 1769-1773.
- Chandraja, C., K. Srideve, S. Gopu y P. Prassettha 2014. "Biorremediación de petróleo crudo e hidrocarburos por actinomicetos con el aumento de la producción de compuestos bioactivos." *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 6: 1066-1071.
- Delgadillo, A., C. González, F. Prieto, J. Villagómez y O. Acevedo 2011. "Fitorremediación: Una alternativa para eliminar la contaminación." *Tropical and Subtropical Agrosystem* 14.
- Dual, M., A. Singth, N. Sethunathan y A. Johri 2002. "Biotecnología y biorremediación: éxitos y limitaciones." *Applied Microbiol Biotechnology* 59: 143-152.
- Fang, Y., S. Shan, L. Lou, L. Guan y H. Qin 2013. "Aislamiento y caracterización de un *Sphingomonas* sp. cepa F-7 fenvalerato degradantes y su uso en la biorremediación de suelos contaminados." *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 48: 198-207.
- Gómez-Arnau, J. 2015. "(En línea) El cultivo de girasol." Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. (http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1988_20.pdf): Consulta 26 de noviembre del 2015.
- Gosh, M. y S. Singh 2005. "Una revisión en la fitorremediación de metales pesados y la utilización de sus productos " *Applied Ecology and Environmental Research* 3: 1-18.
- Gutiérrez, L., A. Melgoza, M. Alarcón, D. Prado y M. Cedillo 2011. "Germinación del girasol silvestre (*Helianthus annuus* L.) en presencia de diferentes concentraciones de metales " *Revista Latinoamericana Biotecnología Ambiental Algal* 2: 5-6.
- Kajakaruna, N., K. Tompkins y P. Pavicevic 2006. "Fitorremediación: Una tecnología verde asequible para la limpieza de sitios contaminados en metal-sri lanka." *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)* 35: 25-39.
- Kuma, A., B. Bisht, V. Joshi y T. Dhewa 2011. "Biorremediación de Medio Ambiente Contaminado: una herramienta de gestión." *International Journal of Environmentl Sciences*. 1: 1079-1093.
- López-Martínez, S., M. Gallegos-Martínez, L. Pérez-Flores y M. Gutierrez-Rojas 2005. "Mecanismos de Fitorremediación en suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas." *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 21: 93.
- López, J., G. Quintero, A. Guevara, C. Jaimes, S. Gutiérrez y J. Miranda 2006a. "Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo." *Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca* 4: 82-90.

- López, J., G. Quintero, A. Vizcaíno, D. Cáceres, S. Riaño y J. García 2006b. "Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo." Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca 4: 82-90.
- López, R., H. Covarrubias, M. Villalobos, R. González, J. Cortés, G. Nieves y C. M., Eds. (2011). Síntesis ambiental y cultural de la Laguna de Zapotlán.
- Margesin, R. y F. Schinner 2001. "La biodegradación y biorremediación de hidrocarburos en ambientes extremos." Applied Microbiology and Biotechnology 56: 650-663.
- Marmioli, N., M. Marmioli y E. Maestri 2006. "Fitorremediación Y fitotecnologías: Revisión para el presente y el futuro." University of Parma Department of Environmental Sciences: 403-416.
- Muñoz, L., G. Nevárez, M. Ballinas y M. Peralta 2015. "Fitorremediación como una alternativa para el tratamiento de suelos contaminados." Revista Internacional de Ciencia y Tecnología: 6.
- Nápoles, J. y A. Ávalos 2008. "(en línea) Biorremediación de ecosistemas contaminados con xenobióticos." Monografías de la Universidad de Oriente (<http://monografias.uo.edu.cu/index.php/monografias/article/view/4/6>): (consulta el 16 de abril del 2015).
- Núñez, J., Ed. (2006). Manual de laboratorio de edafología.
- Okoh, A. 2006. "Biodegradación alternativa en la limpieza del petróleo." Biotechnology and Molecular Biology 1: 38-50.
- Olguín, E., M. Hernández y G. Sánchez 2007. "Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y restauración." Revista internacional de contaminación ambiental 23: 139-154.
- Ortíz, O., I. Ize y A. Gavilán "(en línea) La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México." INE (<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/gacetas/422/restauracion.html>): (Consulta 17 de abril del 2015).
- Ortíz, O., I. Ize y A. Gavilán 2015. " 2015 (En línea) La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México." INE (<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/gacetas/422/restauracion.html>): (Consulta 17 de abril del 2015).
- Pandey, B. y M. Fulekar 2012. "Tecnología de Biorremediación: Un nuevo horizonte para la limpieza del medio ambiente." Biology and Medicine 6: 51-59.
- Paneque, V., J. Calaña, M. Calderón, Y. Barges, T. Hernández y M. Caruncho, Eds. (2010). Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos.
- Pankja, J. y B. Vivek 2012. "Biotecnología de bioremediation- una opinión." International Journal of Environmental Sciences 3: 535-549.

- Peña, J., B. Barrera, R. Ruiz y B. Xoconostle 2006. "Bases biológicas de la fitorremediación de hidrocarburos totales de petróleo." *TERRA latinoamérica* 24: 529-539.
- Peralta, M. y T. Volke 2012. "La defensa antioxidante de las plantas: una herramienta clave para la fitorremediación." *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11: 75-88.
- Phelps, C. y L. Young 2001. "La biodegradación de BTEX en condiciones anaeróbicas: una revisión." *Advances in Agronomy* 70: 329-357.
- Pioneer, B. T. 2015. "(En línea) Fases del desarrollo del Girasol y los factores determinantes del rendimiento." ([http://www.pioneer.com/CMRoot/International/Argentina Intl/AGRONOMIA/boletines/Girasol_boletin.pdf](http://www.pioneer.com/CMRoot/International/Argentina_Intl/AGRONOMIA/boletines/Girasol_boletin.pdf)): Consulta 06 de diciembre del 2015.
- Prabha, K., A. Mushtaque y A. Hayder 2014. "La fitorremediación: Un enfoque sostenible para la remediación de contaminantes en las regiones áridas." *Plant Science* 26: 757-772.
- Prasad, K., N. Kumar y S. Sharma 2010. "Biorremediación: novedades, Prácticas y Perspectivas actuales." *Genetic Engineering and Biotechnology*.
- Privetz, B. 2015. "(En línea) Emisión de Aguas Subterráneas." EPA (http://www.epa.gov/superfund/remedytech/tsp/download/epa_540_s01_500.pdf): (Consulta 18 de abril del 2015).
- Sabaté, J., M. Viñas y A. Solanas 2003. "Experimentos de biorremediación a escala de laboratorio en suelos contaminados con hidrocarburos." *International Biodeterioration & Biodegradation*.
- Sharma, J. y M. Fulekar 2009. "Potencial de *Citrobacter freundii* de bioacumulación de metales pesados - cobre." *Biology and Medicine* 1: 7-14.
- Sharma, S. 2012. "Biorremediación: Características, estrategias y aplicaciones." *Asian Journal of Pharmacy and Life Science* 2.
- Singh, O. y R. Jain 2003. "La fitorremediación de contaminantes aromáticos tóxicos de los suelos." *Applied Microbiology and Biotechnology* 63: 128-135.
- Stephenson, C. y C. Black 2014. "Un paso adelante, dos pasos atrás: la evolución de la fitorremediación en tecnologías comerciales." *Bioscience Horizons* 7.
- Sulmon, C., G. Gouesbet, F. Binet, F. Martin, A. Amrani y I. Couee 2007. "Enmienda sacarosa mejora fitoacumulación del herbicida atrazina en *Arabidopsis thaliana*." *Environmental Pollution* 145: 507-515.
- Thapa, B., A. Kumar y A. Ghimire 2012. "Una revisión sobre biorremediación de hidrocarburos de petróleo contaminantes en el suelo." *Journal of Science, Engineering and Technology* 8: 164-170.
- Torres, J. 2009. "Fitorremediación de aguas residuales por hidroponía." Instituto Politécnico Nacional.
- Vidali, M. 2001. "La biorremediación. Una visión general." *Pure and Applied Chemistry* 73: 1163-1172.

- Viñas, M. 2005. "(en línea) Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica." Universidad de Barcelona (http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2396/TESIS_MVINAS_CANALS.pdf?sequence=1); (Consulta el 17 de abril del 2015).
- Volke, T. y J. Velasco 2013. "(En línea) Biodegradación de hidrocarburos del petróleo en suelos interperizados mediante composteo." Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental (<http://www.inecc.gob.mx/descargas/dqcenica/composteo2003.pdf>).
- Volke, T. y J. Velasco, Eds. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT).
- Yaima, S. 2011. "Biorremediación: una herramienta para el saneamiento de ecosistemas marinos contaminados con petróleo." Biotecnología Aplicada 28.

APÉNDICE

Datos obtenidos de las variables del análisis de suelos

Variables Tratamientos	Medidas tomadas antes de la aplicación de gasolina			Después de la aplicación de gasolina		
	Long. de tallo (cm)	Tamaño de hoja (cm)	Número de hojas	Long. de tallo(cm)	Tamaño de hoja (cm)	Número de hojas
T1	42.8	8.47	14.75	72.25	23.75	10
T2	40.5	6.52	12	43.75	25.75	8.3
T3	54.75	7.17	12.25	54	22	17.9
T4	41.6	7.87	14	80.5	28.75	14.57
T5	44	4.75	9	43.37	11.5	6.1

Datos de las variables medidas en el girasol

Longitud de tallo (cm), tamaño de hojas (cm) y número de hojas del girasol antes de la aplicación de gasolina.

	Longitud de tallo(cm)				Tamaño de hojas (cm)				Número de hojas			
T1	35	30.5	53	53	6.7	8.8	10.4	8	17	10	15	17
T2	50	32	36	44	4.7	7.4	7	7	15	14	8	11
T3	44	60	60	55	6	8	9.7	5	11	8	14	16
T4	60	25	36.5	45	10	9.5	11	10	17	11	14	14
T5	60	58	34	24	5	3	5	6	14	8	8	6

Longitud de tallo (cm), tamaño de hojas (cm) y número de hojas del girasol después de la aplicación de gasolina.

Concentraciones (ml)		Longitud de tallo(cm)				Número de hojas				Tamaño de hojas (cm)			
50	T1	84	75	67	63	27	20	25	23	8	10	13	9
100	T2	52	33	44	46	30	23	20	30	6	9.5	8.7	9
150	T3	34	69	63	50	19	24	18	27	7.1	8	13.5	5.5
0 (testigo con estiércol)	T4	84	64	85	89	30	30	25	32	13.5	14.3	15	15.5
0 (testigo con suelo sin estiércol)	T5	63	46	39.5	25	12	13	12	9	7.4	5	6	6



Figura 4. Preparación del suelo con estiércol.



Figura 5. Llenado de las bolsas con el sustrato preparado en el invernadero del Jardín botánico-UL "Jersey Rzedowski Rotter".



Figura 6 Orden de los tratamientos en la mesa de trabajo del invernadero.



Figura 7 Aplicación de gasolina a los tratamientos T1, T2 y T3 con las respectivas dosis de 50ml, 100ml, y 150ml.



Figura 8. Crecimiento de la planta.



Figura 9. Floración del girasol T4.