

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

*Trabajo de titulación previo
a la obtención del título de
Ingeniero Ambiental*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**RECUPERACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON COBRE Y
PLOMO MEDIANTE MÉTODOS BIOLÓGICOS AL INTERIOR DEL
CAMPAMENTO GUARUMALES - CORPORACIÓN
HIDROELECTRICA DEL ECUADOR, CELEC EP - UNIDAD DE
NEGOCIO HIDROPAUTE**

AUTORES:

EDUARDO SEBASTIÁN GUARTATANGA CAIVINAGUA
KLEVER GEOVANNY SIGUENCIA URGILES

TUTOR:

LCDO. MANUEL ERNESTO DELGADO FERNÁNDEZ, Ph.D

CUENCA - ECUADOR

2019

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Nosotros, Eduardo Sebastián Guartatanga Caivinagua con documento de identificación N° 0105955405 y Klever Geovanny Siguencia Urgiles con documento de identificación N° 0302478664, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales, en virtud de que somos autores del trabajo de titulación: **RECUPERACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON COBRE Y PLOMO MEDIANTE MÉTODOS BIOLÓGICOS AL INTERIOR DEL CAMPAMENTO GUARUMALES - CORPORACIÓN HIDROELECTRICA DEL ECUADOR, CELEC EP - UNIDAD DE NEGOCIO HIDROPAUTE**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniero Ambiental* en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En la aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, julio de 2019



Eduardo Sebastián Guartatanga Caivinagua

C.I. 0105955405



Klever Geovanny Siguencia Urgiles

C.I. 0302478664

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación:
**RECUPERACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON COBRE Y PLOMO
MEDIANTE MÉTODOS BIOLÓGICOS AL INTERIOR DEL CAMPAMENTO
GUARUMALES - CORPORACIÓN HIDROELECTRICA DEL ECUADOR,
CELEC EP - UNIDAD DE NEGOCIO HIDROPAUTE**, realizado por Eduardo
Sebastián Guartatanga Caivinagua y Klever Geovanny Siguencia Urgiles, obteniendo el
Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos estipulados por la
Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, julio de 2019



Lcdo. Manuel Ernesto Delgado Fernández Ph.D

C.I. 0102073780

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Nosotros, Eduardo Sebastián Guartatanga Caivinagua con documento de identificación N° 0105955405 y Klever Geovanny Siguencia Urgiles con documento de identificación N° 0302478664, autores del trabajo de titulación: **RECUPERACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON COBRE Y PLOMO MEDIANTE MÉTODOS BIOLÓGICOS AL INTERIOR DEL CAMPAMENTO GUARUMALES - CORPORACIÓN HIDROELECTRICA DEL ECUADOR, CELEC EP - UNIDAD DE NEGOCIO HIDROPAUTE**, certificamos que el total contenido del *Trabajo Experimental* es de nuestra exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, julio de 2019



Eduardo Sebastián Guartatanga Caivinagua

C.I. 0105955405



Klever Geovanny Siguencia Urgiles

C.I. 0302478664

DEDICATORIA

La concepción de este proyecto está dedicada a mis padres, pilares fundamentales en mi vida. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora. Su tenacidad y lucha insaciable han hecho de ellos un gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mi hermano y familia en general.

También dedico este proyecto a mi esposa Ligia, compañera inseparable de cada jornada. Ella representó gran esfuerzo y tesón en momentos de decline y cansancio.

Finalmente, a una personita que quizá en este momento no entienda mis palabras, pero para cuando seas capaz, quiero que te des cuenta de lo que significas para mí. Eres la razón por la cual me levante cada día a esforzarme por el presente y el mañana, eres mi principal motivación. A ellos este proyecto, que sin ellos, no hubiese podido ser.

Sebastián G.

DEDICATORIA

Este proyecto va dedicado a mis dos pilares fundamentales en mi vida, mis padres JULIO y ROSA quienes lucharon junto a mi lado para poder cumplir mi meta de ser un profesional. A la Virgencita del Cisne en quien puse toda mi fe desde el momento en que me planteé mis metas.

De manera especial a mis queridas abuelitas SEGUNDA y ANGELITA que se encuentran en el cielo y que siempre me acompañan cuidándome y guiándome por el buen camino para poder ser una persona de bien en la sociedad.

De Igual manera manifiesto mi dedicatoria a mis queridos hermanos, Héctor, Julio Alejandro, José, Jenny, Gino y a todos mis sobrinos que son mi adoración y mi inspiración para cumplir mis metas.

Le dedico a DIOS por ser mi guía y mi iluminación de cada día.

“Para ser más, debo buscar más”

Klever S.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios por haberme guiado por el camino de la felicidad hasta ahora; en segundo lugar a cada uno de los que son parte de mi familia a mi PADRE Silvio Hermel, mi MADRE Wilma Azucena, a mis hermano Xavier; por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora.

A mis profesores a quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza y finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa universidad la cual abrió sus puertas a jóvenes como nosotros, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

Finalmente, a la empresa CELEC EP, Unidad de Negocio Hidropaute por la acogida y apoyo brindado en el proceso del desarrollo de este proyecto.

Sebastián G.

AGRADECIMIENTO

Mi expresión sincera de agradecimiento a DIOS por ser una parte fundamental en mi formación académica y por haberme ayudado alcanzar mis metas sobrellevando de manera serena los momentos difíciles.

A mis padres y hermanos por ser mis pilares fundamentales en mi formación personal y por el apoyo brindado en el proceso de mi vida universitaria.

A mis queridos amigos, compañeros de clase y docentes de la Universidad Politécnica Salesiana por brindarme su apoyo en mis estudios y permitirme cumplir mis sueños compartiendo su cariño y conocimientos.

A los Ingenieros Rolando Torres, Rafael Vélez y José Arias de la empresa CELEC EP, Unidad de Negocio Hidropaute por la acogida, asesoramiento y apoyo brindado en el proceso del desarrollo de este proyecto.

Finalmente extendiendo mi sincero agradecimiento de manera especial al PhD Ernesto Delgado, por su asesoría y apoyo brindado en el desarrollo de este proyecto.

Klever S.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como propósito valorar las técnicas de bioestimulación, bioaumentación y fitoextracción en la recuperación de suelos contaminados con plomo y cobre. La bioestimulación se realizó mediante un fertilizante químico (10-30-10), la bioaumentación mediante las cepas *Trichoderma spp* y *Penicillium spp* pertenecientes al fungario de la Universidad Politécnica Salesiana y la fitoextracción a través las especies vegetales girasol *Hellianthus annuus* y tabaco *Nicotiana tabacum*.

En campo el estudio se hizo en el campamento Guarumales de la Corporación Eléctrica del Ecuador CELEC EP, Unidad de Negocio Hidropaute, ubicada a 3 horas de la ciudad de Cuenca, para el efecto se delimitaron 4 áreas específicas en base a los resultados de los análisis químico analíticos de monitoreo que realiza la empresa y los límites permisibles que dicta la normativa nacional.

La bioestimulación y bioaumentación se hizo en las áreas de expendio de combustibles (A1G) y taller de carpintería (A2TC); y en las áreas denominadas chatarrera (A3CH) y taller mecánico (A4TM) se hizo fitoextracción. Los resultados evidencian una disminución de la concentración de plomo y cobre, en base a concentraciones iniciales que no cumplen la normativa vigente, obteniendo concentraciones finales cuyos valores son: en el área “A1G” una concentración de 51,4 mg/kg de plomo y 88,8 mg/kg de cobre mediante la técnica de bioestimulación. En la misma área una concentración de 64,6 mg/kg de plomo y 103,1 mg/kg de cobre mediante la técnica de bioaumentación. En el área “A2TC” la concentración final de plomo fue de 69 mg/kg mientras que de cobre de 121 mg/kg con la aplicación de la técnica de bioestimulación. Con la aplicación de la técnica de bioaumentación se obtuvo una concentración final de 67,6 mg/kg de plomo y de 119,6 mg/kg de cobre. En el área “A3CH” se aplicó la técnica de fitoextracción mediante el cultivo de dos especies de plantas, *Hellianthus annuus* y *Nicotiana tabacum*,

como resultado se obtuvo una concentración de 117 mg/kg de cobre con el primer cultivo y 86,7 mg/kg con el segundo cultivo. Finalmente, en el área “A4TM” con la misma técnica, la concentración de cobre fue de 47,9 mg/kg y 53,7 mg/kg respectivamente. Los resultados del análisis estadístico evidencian que la diferencia entre los grupos de datos no es significativa, sin embargo, inferimos que la bioaumentación y el cultivo de tabaco son efectivos en la recuperación de suelos. En base a los resultados podemos concluir que la tendencia es la disminución de las concentraciones de plomo y cobre, independiente del método utilizado, mismas que serían verificables con el transcurrir del tiempo.

Palabras claves: biorremediación de suelo, bioestimulación, bioaumentación, fitoextracción, cepas fúngicas, metales pesados en el suelo.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the techniques of biostimulation, bioaugmentation and phytoextraction in the recovery of soils contaminated with lead and copper. Biostimulation was performed using a chemical fertilizer (10-30-10), bioaugmentation using the *Trichoderma* spp and *Penicillium* spp strains belonging to the Funeral of the Salesian Polytechnic University and the phytoextraction through the *Helianthus annuus* sunflower plant species and *Nicotiana tabacum* tobacco.

In the field the study was carried out in the Guarumales camp of the Electric Corporation of Ecuador CELEC EP, Hidropaute Business Unit, located 3 hours from the city of Cuenca, for this purpose 4 specific areas were delimited based on the results of the analyzes Analytical chemical monitoring performed by the company and the permissible limits dictated by national regulations.

Biostimulation and bioaugmentation was done in the areas of fuel sales (A1G) and carpentry workshop (A2TC); and in the areas called scrap metal (A3CH) and mechanical workshop (A4TM) phytoextraction was done. The results show a decrease in the concentration of lead and copper, based on initial concentrations that do not comply with current regulations, obtaining final concentrations whose values are: in the "A1G" area a concentration of 51.4 mg / kg of lead and 88.8 mg / kg of copper using the biostimulation technique. In the same area a concentration of 64.6 mg / kg of lead and 103.1 mg / kg of copper using the bioaugmentation technique. In the "A2TC" area the final concentration of lead was 69 mg / kg while copper was 121 mg / kg with the application of the biostimulation technique. With the application of the bioaugmentation technique, a final concentration of 67.6 mg / kg of lead and 119.6 mg / kg of copper was obtained. In the "A3CH" area, the phytoextraction technique was applied through the cultivation of two plant species, *Helianthus annuus* and *Nicotiana tabacum*, as a result a concentration of

117 mg / kg of copper was obtained with the first culture and 86.7 mg / kg with the second crop. Finally, in the “A4TM” area with the same technique, the copper concentration was 47.9 mg / kg and 53.7 mg / kg respectively. The results of the statistical analysis show that the difference between the data groups is not significant, however we infer that bioaugmentation and tobacco cultivation are effective in soil recovery. Based on the results, we can conclude that the trend is the decrease in lead and copper concentrations, regardless of the method used, which would be verifiable over time.

Keywords: soil bioremediation, biostimulation, bioaugmentation, phytoextraction, fungal strains, heavy metals in the ground.

INDICE

CESION DE DERECHOS DE AUTOR.....	I
CERTIFICACION.....	II
DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD.....	III
DEDICATORIAS.....	IV
AGRADECIMIENTOS.....	VI
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	X

CAPITULO I: 1

INTRODUCCION 1

1.1 Antecedentes 1

1.2 La Problemática..... 1

1.3 Justificación..... 2

1.4 Objetivos..... 2

1.4.1 Objetivo General..... 2

1.4.2 Objetivos Específicos 3

1.5 Problemática de la contaminación del suelo por metales pesados 3

1.5.1 Contaminación del suelo por metales pesados a nivel mundial 3

1.5.2 Contaminación del suelo por metales pesados en el Ecuador 4

1.6 Generalidades de los metales pesados..... 6

1.6.1 Movilización de metales pesados en el suelo 6

1.6.2 El Cobre..... 7

1.6.2.1 Efectos del cobre en el ambiente 8

1.6.2.2 Efectos del cobre en la salud 8

1.6.3 El Plomo 9

1.6.3.1 Efectos del plomo en el ambiente..... 9

1.6.3.2 Efectos del plomo en la salud..... 10

1.7 Normativa ambiental en el Ecuador 10

1.8 Carga microbiana en el suelo 11

1.9 Métodos de recuperación de suelos contaminados con metales pesados..... 11

1.9.1 Métodos biológicos 12

1.9.1.1	Métodos biológicos <i>in situ</i>	12
1.9.1.2	Métodos biológicos <i>ex situ</i>	13
1.10	Biorremediación de suelo contaminado con metales pesados	14
1.10.1	Bioestimulación	15
1.10.1.1	Papel del nitrógeno en el suelo	16
1.10.1.2	Papel del fósforo en el suelo.....	16
1.10.1.3	Papel del potasio en el suelo.....	17
1.10.1.4	Capacidad de campo	17
1.10.2	Bioaumentación	18
1.10.2.1	El género fúngico <i>Trichoderma spp</i> y la biorremediación de suelos contaminados con plomo y cobre	18
1.10.2.2	El género fúngico <i>Penicillium spp</i> y la biorremediación de suelos contaminados con plomo y cobre	19
1.10.3	Fitorremediación.....	20
1.10.3.1	Fitoextracción de metales pesados	20
1.10.3.1.1	Plantas hiperacumuladoras de metales pesados	21

CAPITULO II:..... 22

MATERIALES Y METODOS..... 22

2.1 Ubicación del área de estudio 22

2.2 Características del área de estudio 22

2.2.1 Geología

2.2.2 Topografía

2.2.3 Precipitación, humedad y temperatura

2.3 Determinación de las áreas de intervención..... 23

2.3.1 Levantamiento topográfico.....

2.4 Plan de muestreo para las áreas de estudio..... 24

2.4.1 Muestreo por área

2.5 Siembra y aislamiento *in vitro* de cepas fúngicas..... 25

2.5.1 Placas de suelo Warcup

2.6 Ubicación taxonómica 25

2.7 Preparación del suelo previo a la aplicación de las técnicas de biorremediación 25

2.8 Bioestimulación..... 26

2.9 Bioaumentación 26

2.10	Fitoextracción.....	27
2.11	Monitorización de las áreas de estudio	27
2.12	Análisis estadístico	27
CAPITULO III:		28
RESULTADOS Y DISCUSION		28
3.1	Características del área de estudio	28
3.1.1	Geología	28
3.1.2	Topografía	28
3.1.3	Precipitación	30
3.1.4	Temperatura.....	30
3.1.5	Humedad.....	30
3.2	Levantamiento topográfico de las áreas a intervenir	31
3.3	Análisis químico analítico de las áreas A1G y A2TC	35
3.4	Hongo nativo predominante en las áreas A1G y A2TC.....	36
3.5	Cepas fúngicas	37
3.6	Valoración de los procesos de bioestimulación, bioaumentación y fitoextracción.....	37
3.6.1	Parámetros fisicoquímicos de las áreas de estudio	37
3.6.2	Concentración inicial de plomo y cobre en las diferentes áreas de estudio ...	39
3.6.3	Valoración de plomo y cobre con las técnicas de bioestimulación y bioaumentación.....	39
3.6.3.1	Área de expendio de combustibles (A1G).....	39
3.6.3.2	Área de Taller de Carpintería (A2TC).....	41
3.6.3.3	Análisis de la carga microbica del suelo en las áreas A1G y A2TC	43
3.6.4	La fitoextracción y los niveles de cobre	44
3.6.4.1	Área de Chatarrera (A3CH).....	44
3.6.4.2	Área de Taller Mecánico (A4TM).....	45
3.6.5	Resultados luego de la aplicación de los tratamientos de bioestimulación, bioaumentación y fitoextracción.	47
3.7	Análisis estadístico.....	47
3.7.1	Comparación de medias de los grupos de datos	48
3.7.1.1	Prueba <i>T student</i> para el área A1G	49
3.7.1.2	Prueba <i>T student</i> para el área A2TC	52
3.7.1.3	Prueba <i>T student</i> para el área A3CH	55
3.7.1.4	Prueba <i>T student</i> para el área A4TM	56

DISCUSION.....	58
CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFIA.....	62
ANEXOS	71

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tendencias regionales de las condiciones del suelo.....	5
Tabla 2: Criterios de remediación o restauración del suelo	11
Tabla 3: Métodos “in situ”	12
Tabla 4: Métodos “ex situ”.....	13
Tabla 5: Factores que afectan la biorremediación.....	15
Tabla 6: Coordenadas UTM del Campamento Guarumales	22
Tabla 7: Clasificación de pendientes de acuerdo al MAGAP	23
Tabla 8: Límites permisibles de cobre y plomo en un suelo de uso industrial.....	23
Tabla 9: Resultado de análisis de suelos para las áreas del campamento Guarumales .	24
Tabla 10: Tipos de pendientes para las áreas a intervenir	29
Tabla 11: Datos correspondientes a la temperatura del año 2018 de la estación Guarumales.....	30
Tabla 12: Datos correspondientes a la humedad del año 2018 de la estación Guarumales	30
Tabla 13: Coordenadas UTM del área A1G.....	31
Tabla 14: Coordenadas UTM del área A2TC	31
Tabla 15: Coordenadas UTM del área A3CH	31
Tabla 16: Coordenadas UTM del área A4TM.....	32
Tabla 17: Áreas y Perímetros correspondientes a las áreas de estudio del campamento Guarumales.....	35
Tabla 18: Resultados del análisis químico analítico del A1G.....	36
Tabla 19: Resultados del análisis químico analítico del A2TC.....	36
Tabla 20: Resultados de monitorización de pH.....	38
Tabla 21: Resultados de monitorización de temperatura.....	38

Tabla 22: Resultados de las concentraciones iniciales de Pb y Cu en las diferentes áreas de estudio.....	39
Tabla 23: Resultados de las concentraciones de Pb y Cu en el área A1G.....	40
Tabla 24: Resultados de las concentraciones de Pb y Cu en el área A2TC	42
Tabla 25: Microorganismos eficientes	44
Tabla 26: Resultados de las concentraciones de Cu en el área A3CH	45
Tabla 27: Resultados de las concentraciones de Cu en el área A4TM.....	46
Tabla 28: Resultados de las concentraciones finales de Pb y Cu en las diferentes áreas	47
Tabla 29: Comparación de medias de grupos de datos de las áreas de estudio.....	48
Tabla 30: Prueba de muestras independientes para el A1G con plomo	50
Tabla 31: Prueba de muestras independientes para el A1G con cobre.....	51
Tabla 32: Prueba de muestras independientes para el A2TC con plomo	52
Tabla 33: Prueba de muestras independientes para el A2TC con cobre	54
Tabla 34: Prueba de muestras independientes para el A3CH con cobre	55
Tabla 35: Prueba de muestras independientes para el A4TM con cobre	56

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Respuestas típicas de las plantas frente a la presencia de metales pesados en el suelo.....	21
Figura 2: Geología del área de estudio.....	28

INDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografía 1: Implementos para la fumigación.....	26
Fotografía 2: Medición de las áreas de estudio.....	32
Fotografía 3: Selección de cepas fúngicas eficientes.....	37

INDICE DE MAPAS

Mapa 1: Pendientes correspondientes a las áreas.....	29
Mapa 2: Ubicación de las áreas de aplicación dentro del Campamento Guarumales...	33
Mapa 3: Levantamiento planimétrico del área de Expendio de Combustibles (Gasolinera) “A1G”.....	33
Mapa 4: Levantamiento planimétrico del área de Taller de Carpintería “A2TC”	34
Mapa 5: Levantamiento planimétrico del área de Chatarrera “A3CH”	34
Mapa 6: Levantamiento planimétrico del área de Taller Mecánico “A4TM”	35

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 1: Concentraciones de plomo en el A1G.....	40
Gráfico 2: Concentraciones de cobre en el A1G	41
Gráfico 3: Concentraciones de plomo en el A2TC	42
Gráfico 4: Concentraciones de cobre en el A2TC.....	43
Gráfico 5: Concentraciones de cobre en el A3CH	45
Gráfico 6: Concentraciones de cobre en el A4TM.....	46
Gráfico 7: Comparación de grupos de datos mediante diagrama de cajas	49
Gráfico 8: Distribución de normalidad para las concentraciones de plomo en el A1G	50
Gráfico 9: Distribución de normalidad para las concentraciones de cobre en el A1G..	51
Gráfico 10: Distribución de normalidad para las concentraciones de plomo en el A2TC	53
Gráfico 11: Distribución de normalidad para las concentraciones de cobre en el A2TC	54
Gráfico 12: Distribución de normalidad para las concentraciones de cobre en el A3CH	55
Gráfico 13: Distribución de normalidad para las concentraciones de cobre en el A4TM	57

1 CAPITULO

INTRODUCCION

1.1 Antecedentes

El suelo es considerado como un recurso no renovable con respecto a la escala de tiempo, es decir, su pérdida y degradación no son reversibles en el curso de la vida humana (FAO, 2015). Es nuestra obligación conservarlo para futuras generaciones utilizándolo de manera correcta en las diferentes actividades desarrolladas por el ser humano, teniendo siempre presente el concepto de sostenibilidad del recurso. Es evidente que los suelos cada vez están más contaminados por actividades antropogénicas, por tal motivo hoy en día se ha convertido en un tema de interés abierto al debate entre gobiernos dispuestos hacer frente a la contaminación de este recurso (Food and Agriculture Organization, 2015).

La contaminación por metales pesados ha sido cuestionada tanto en el área ambiental como en el de salud, debido a los impactos negativos que estos generan en los ecosistemas, metales como el arsénico, cadmio, cobre, plomo, aluminio se los ha utilizado desde siempre en actividades industriales sin conocer los posibles efectos que estos causan, aunque la capacidad de auto-regeneración del suelo es mayor que la del agua y aire, al acumular metales pesados pone en peligro la parte biótica que habitan en él (Galan & Baena, 2008).

1.2 La Problemática

Estos elementos químicos presentan gran toxicidad en el medio ambiente causando problemas en la cadena trófica debiendo ser tratados ya que pueden ser retenidos en el suelo por precipitación o adsorción, pueden movilizarse a la atmósfera por volatilización

e incorporarse al agua y de esta forma causar impactos negativos al ambiente y a la salud humana (Yulieth & Ines, 2016).

Al referirnos a contaminación del suelo con metales pesados debemos considerar la concentración inicial, debido a que influye de manera directa en la movilización del mismo, condicionando su solubilidad, biodisponibilidad y toxicidad (Romero, 2009).

1.3 Justificación

El departamento de gestión ambiental y social de la Corporación Eléctrica del Ecuador CELEC EP, Unidad de Negocio Hidropaute, mediante su programa de monitoreo y seguimiento ambiental contemplado en el plan de manejo ambiental para la central Paute Molino, realizó el monitoreo del suelo en el mes de marzo del año 2018. Los resultados evidencian que el cobre y plomo se encuentran fuera de los límites permisibles establecidos en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente, para el caso del cobre: **198,67 mg/Kg** en el área A1G, **316,53 mg/kg** en el área A2TC, **151,39 mg/kg** en el área A3CH y **104,75 mg/kg** en el área A4TM. La concentración inicial de plomo presentó valores: **207,1 mg/kg** en el área A1G y **1698,50 mg/kg** en el área A2TC (CELEC EP, 2018). De acuerdo a la normativa ambiental vigente estos valores se encuentran fuera del límite permisible establecido.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Valoración de los métodos biológicos de Bioestimulación, Bioaumentación y Fitoextracción en la recuperación de suelos contaminados con Cobre y Plomo en el interior del campamento Guarumales-Corporación Eléctrica del Ecuador CELEC EP, Unidad de Negocio Hidropaute.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Delimitar las áreas contaminadas por Cobre y Plomo.
- Conocer la cantidad de nutrientes presentes en las áreas mediante un análisis químico analítico.
- Realizar aislamiento de microorganismos nativos reconociendo el más predominante del área y así estimular su actividad biológica mediante la inyección de aire e introducción de nutrientes.
- Establecer cepas fúngicas eficientes para su posterior bioaumentación mediante la introducción de soluciones acuosas a fin de mejorar la carga microbica del terreno.
- Aplicar en campo los métodos biológicos de Bioestimulación, Bioaumentación y Fitoextracción.
- Valorar los procesos de Bioestimulación, Bioaumentación y Fitoextracción mediante los resultados de muestreo de suelo, haciendo uso de microorganismos nativos, cepas fúngicas eficientes y las especies vegetales *Nicotiana tabacum* y *Helianthus annuus*.
- Validar mediante una prueba de hipótesis, aplicando una *T de Student* la eficiencia de los métodos biológicos aplicados a las distintas áreas.

ESTADO DEL ARTE

1.5 Problemática de la contaminación del suelo por metales pesados

1.5.1 Contaminación del suelo por metales pesados a nivel mundial

El suelo contaminado por metales pesados es una de las mayores preocupaciones y tema de debate sobre salud y seguridad alimentaria en Europa y todo el mundo. Por una parte se han realizado estudios acerca del mecanismo de captación, transformación y

bioacumulación de estos metales mediante plantas (Tóth, Hermann, Da Silva, & Montanarella, 2016), y por otra la preocupación del incremento de metales pesados en medios naturales los mismos que tienen su origen principal en actividades antropogénicas (Chicharro & Cala, 1998). Las actividades industriales, agrícolas y la mala gestión de residuos sólidos son actividades de carácter antropogénico que han generado la acumulación de los iones metálicos en el suelo (Galán & Romero, 2008). Los metales que se consideran potencialmente contaminantes para ambientes naturales son el cromo (Cr), mercurio (Hg), cadmio (Cd) (Reilly, 2007). Un gran porcentaje de metales ingresa en la cadena trófica a través de cultivos que absorben los nutrientes de los suelos contaminados, existen cuatro vías de permanencia de los metales pesados en el suelo: 1) se quedan retenidos en fase acuosa, 2) son absorbidos por componentes inorgánicos del suelo 3) se adhieren a la materia orgánica, 4) precipitación en forma sólida o mixta (Díez et al., 2009).

De acuerdo a la Agencia de Protección Ambiental (EPA), existen más de 1000 sitios contaminados, donde al menos el 40 % tienen problemas por metales pesados con 306 sitios afectados por cromo y 154 con mercurio (US EPA, 1996).

1.5.2 Contaminación del suelo por metales pesados en el Ecuador

La contaminación del suelo con metales pesados se ha incrementado debido a actividades mineras y el uso inadecuado de derivados del petróleo, explosivos, entre otros, además de la expansión urbana (Coyago & Bonilla, 2017).

El incremento de la minería ilegal ha provocado el aumento de la contaminación del suelo con metales pesados. Los estudios realizados por la Fundación Salud, Ambiente Desarrollo (FUNSAD) en los relaves de Vivanco (Zaruma) y Chancha Gerais (Portovelo), evidencian concentraciones de (Pb; As; Zn; Cd; Cu; y Hg) sobre el límite permisible

establecido en la norma de calidad ambiental (Rodrigo Oviedo, Moína-Quimí, Naranjo-Morán, & Barcos-Arias, 2018).

Hasta la fecha existen pocos estudios relevantes que tratan el tema de metales pesados (Pozo, Sanfeliu, & Carrera, 2011), existe un estudio de “Zonificación de contaminación por metales pesados en San Bartolomé”, se determinó de manera espacial las concentraciones de metales pesados presentes en suelos de uso agrícola utilizando un modelo geoestadístico, de la misma manera existen estudios mediante fitorremediación con cultivos de acelga, alfalfa y amaranto como acumuladoras de plomo (Bonila Valencia, 2013).

Tabla 1: Tendencias regionales de las condiciones del suelo

Parámetros	Condición y Tendencia				
	Muy Pobre	Pobre	Regular	Buena	Muy buena
Erosión del suelo		↙			
Cambio de carbono orgánico		↙			
Salinización y Sodificación		↙			
Desequilibrio de Nutrientes		↙			
Perdida de la biodiversidad del suelo			↗↘		
Compactación		↙			
Anegamiento			=		
Acidificación del suelo			↗↘		

Contaminación	↗ ↘
Sellado del suelo y ocupación del territorio	↗ ↘

Fuente: (FAO, 2016)

Elaborado por: Los autores

1.6 Generalidades de los metales pesados

Son componentes que se encuentran de manera natural en la corteza terrestre y al igual que otros juegan un papel transcendental en los ciclos biogeoquímicos y las funciones bioquímicas y fisiológicas (Ferré Huguet, Schuhmacher Ansuategui, Llobet, & Domingo, 2007).

Estos metales son tóxicos ya que tienen un peso y masa atómica mayor a 20 g/mol y una densidad mayor a 4 g/cm³ (Londoño Franco, Londoño Muñoz, & Muñoz Garcia, 2016).

Los metales potencialmente tóxicos según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos son: el plomo (Pb), cromo (Cr), selenio (Se), arsénico (As), titanio (Ti), cobalto (Co), mercurio (Hg), cobre (Cu), cadmio (Cd) y zinc (Zn) (USEPA, 2014). La contaminación por metales pesados tiene origen antropogénico por el uso de fertilizantes o enmiendas orgánicas que son producidas por materiales orgánicos de nueva generación (C. García, Moreno, Hernandez, & Polo, 2002).

1.6.1 Movilización de metales pesados en el suelo

Estos metales se acumulan en las partículas del suelo y pueden ser movilizados a través de mecanismos químicos y biológicos (Jimenez & Párraga, 2011). Según (Galán & Romero, 2008) la movilidad de los metales no depende solo de factores como su naturaleza y origen, sino también de las características del suelo como pH, sales minerales, textura, materia orgánica y carbonatos.

El pH juega uno de los papeles más importantes en la movilización ya que la mayoría de los elementos traza aumentan su movilidad al incrementar la acidez, de igual manera los cambios de oxidación es una condición que puede causar la disolución de sulfuro y precipitados insolubles aumentando la movilidad de otros metales debido a que por la oxidación del sulfuro aumenta proporcionalmente la acidez (Nelson & Campbell, 1991). Por otra parte, los suelos arcillosos tienen la capacidad de retener metales por adsorción así como los suelos arenosos no poseen esta capacidad de fijación aumentando el grado de contaminación del nivel freático (Galán & Romero, 2008). La materia orgánica por su parte reacciona con los metales pesados originando grupos de quelatos. Entre estos puede ser tan fuerte la adsorción que puede quedar estabilizados como el caso del cobre o formar complejos muy estables como es el caso del plomo y zinc. La salinidad por su parte aumenta su movilización y su retención por dos vías que son: la sustitución de los cationes sodio y potasio por metales pesados y la formación de compuestos más estables al juntarse los aniones de cloruro y sulfato con Pb, Zn, Cu, Cd y Hg.

1.6.2 El Cobre

De símbolo (Cu); número atómico 29; peso atómico 63.54 g/mol y sus valencias son I y II. Es un metal de color rojizo y brillo metálico, conocido por ser un buen conductor eléctrico y aleado a otros metales mejora sus propiedades sobre todo las mecánicas. Se puede encontrar de manera abundante en la corteza de la tierra, en la mayoría de casos se encuentra mezclado con carbonatos, sulfatos u óxidos minerales. Una de sus características químicas más importante es su oxidación lenta frente al aire húmedo lo cual genera una capa anticorrosiva (Jaramaillo, Sánchez, & Amaris, 2006). Por lo general se encuentra distribuido en forma de compuestos minerales constituyendo el Cu⁶³ un 69.1 % y el Cu⁶⁵ un 30.9 % (Nordberg, 2012).

Dentro de la industria es utilizado como materia prima en la fabricación de tuberías de agua, baterías sanitarias, equipos químicos y farmacéuticos. También se lo utiliza como precipitante de selenio en la industria química y más del 75% se lo utiliza en la industria eléctrica (Nordberg, 2012).

1.6.2.1 Efectos del cobre en el ambiente

Según (Jaramaillo et al., 2006) la cantidad de cobre en la corteza terrestre es de 68 ppm, siendo una pequeña fracción que se mueve de forma constante en la tierra, otra forma de movilización es por erupciones volcánicas, sin embargo las actividades humanas como la extracción de minerales, fundición, minería, residuos domésticos, fertilizantes, fungicidas, plaguicidas han sido las que mayor aporte tienen frente al aumento de las concentraciones en el suelo y en agua mediante sus diferentes rutas de movilización en el medio ambiente (Lagos, 2012). En concentraciones elevadas es tóxico y sus efectos se los ve reflejados en las plantas, afectando el crecimiento radicular con lesiones en las raíces y formando raicillas cortas de color pardo (Kamunde & Wood, 2004).

1.6.2.2 Efectos del cobre en la salud

La ingestión accidental de compuestos de cobre es relativamente inofensiva si se toman las debidas medidas a tiempo, como inducir al vómito permitiendo liberar gran parte de la sustancia ingerida. Por otra parte las actividades relacionadas con fragmentos de cobre metálico se pueden alojar en los ojos causando uveítis, abscesos y finalmente pérdida de los ojos. Otra actividad que genera riesgo son las fumigaciones de viñedos, lo que genera lesiones pulmonares y granulomas hepáticos cargados de cobre (Nordberg, 2012).

1.6.3 El Plomo

Metal de color gris azulado que pierde su brillo al exponerse al aire debido a la formación de óxido, es muy suave y maleable y de fácil fundición. Su símbolo es (Pb), su peso atómico 207.2 g/mol y un número atómico de 82. Además, existen diferentes isótopos con números de peso atómico de 204, 206, 207 y 208. Por decaimiento radiactivo se obtiene Pb^{206} de la serie del uranio, Pb^{207} de la serie del Actinio y Pb^{208} de la serie del Torio (Corzo, Ibis. Velásquez, 2014). Industrialmente se lo utiliza de forma sólida o líquida, siendo las aleaciones más utilizadas con sodio (Na), cobre (Cu), cadmio (Cd), estaño (Sn), arsénico (As) sin embargo, dentro de la industria moderna son de gran importancia por propiedades como, su baja dureza, estabilidad química en el agua, suelo y aire, resistencia a ácidos y punto de fusión alto. (Bonila Valencia, 2013).

1.6.3.1 Efectos del plomo en el ambiente

Elemento contaminante de los ecosistemas. No contamina solamente el aire, sino que una vez acumulado en los suelos y aguas presenta una gran persistencia a la degradación. Produce malformaciones y cambios de comportamiento de organismos tanto acuáticos como terrestres por bioacumulación en sus ecosistemas (Ubillus Limo, 2003). El 95% del plomo que se encuentra depositado en el ambiente es de origen antropogénico según la Organización Panamericana de la Salud (PAHO). Cuando este metal es liberado al medio ambiente ocurre una serie de reacciones que se mencionan a continuación: 1) Los compuestos de plomo son transformados por el aire, agua y luz del sol. 2) Son liberados al aire desplazándose extensos recorridos antes de depositarse en el suelo, y finalmente al llegar al suelo se adhiere a sus partículas y es trasladado hacia sus diferentes horizontes hasta llegar al agua subterránea. Esto dependerá mucho del tipo de compuesto de plomo y de las características edafológicas (ASTDR, 2007).

1.6.3.2 Efectos del plomo en la salud

La toxicidad del plomo es el principal riesgo para la salud humana. Con un crecimiento exponencial de la industria se han creado nuevos empleos como la de plástico, lo que ha traído como consecuencia la exposición al plomo en un sin número de actividades profesionales siendo la minería una de las actividades que presenta mayor incidencia sobre la salud humana (Bondy & Prasad, 1988).

El plomo se absorbe a través del aparato digestivo, luego pasa al torrente sanguíneo acumulándose en tejidos como los músculos. De acuerdo a (Nordberg, 2012), este metal inorgánico no se metaboliza pero si se absorbe. La velocidad a la que se absorbe en el organismo depende de la forma física y química del elemento así como de la edad y estado nutricional de la persona. Una vez que el plomo llega al torrente sanguíneo, se distribuye en 3 compartimientos: 1) Tejidos blandos como riñones, medula ósea, hígado y cerebro 2) Sangre, y 3) Tejido mineralizado como huesos y dientes.

1.7 Normativa ambiental en el Ecuador

La norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados tiene como objetivo principal conservar la calidad del suelo y preservar la integridad de las personas, ecosistemas y sus interrelaciones. Además se establece los criterios de calidad del suelo, criterios de remediación para suelos contaminados, normas de aplicación general para diferentes usos de suelos y las normas técnicas para la respectiva valoración de la capacidad agrológica del suelo (TULSMA, 2017).

Tabla 2: Criterios de remediación o restauración del suelo

Sustancia	Unidades (Concentración en peso seco)	Uso del suelo			
		Agrícola	Residencial	Comercial	Industrial
Parámetros Generales					
pH	-----	6 a 8	6 a 8	6 a 8	6 a 8
Cobre	mg/kg	63	63	91	91
Plomo	mg/kg	100	100	150	150

Nota: Se indican los valores permisibles de metales pesados de acuerdo a los distintos usos de suelo.

Fuente: (TULSMA, 2017)

Elaborado por: Los autores

1.8 Carga microbiana en el suelo

Existen interacciones de diferentes microorganismos como los actinomicetos y bacterias considerados de gran importancia en la actividad biológica del suelo, principalmente en la mesofauna. Por lo tanto, un suelo con altos índices de carga microbiana beneficia directamente a las actividades como la agricultura y el control de antagonistas de patógenos de las plantas en el suelo (Pfenning & Magalhães De Abreu, 2012). La actividad biológica de los microorganismos depende en gran medida de la disponibilidad de oxígeno para desarrollar sus funciones biológicas, además del tipo de sustrato (Hoseini, Jabbari, & Naddafi, 2012). La diversidad de microorganismos en el suelo es fundamental para la sorción de metales pesados (Arrieta et al., 2012), es decir se beneficia del potencial metabólico de los microorganismos para convertir contaminantes orgánicos en compuestos más simples (Hernández, Álvarez, & Ríos, 2017).

1.9 Métodos de recuperación de suelos contaminados con metales pesados

De acuerdo a lo que manifiesta (Batista García & Sánchez Reyes, 2009) y (Noguera-Solís & Huete-Pérez, 2017) existen dos métodos para la descontaminación de suelo: 1) Físico-químicos y 2) Biológicos.

1.9.1 Métodos biológicos

Son procesos de recuperación que utilizan la actividad biológica de los microorganismos por medio de reacciones que están dentro de sus procesos metabólicos con el fin de degradar contaminantes orgánicos o reducir la disponibilidad de otros contaminantes inorgánicos. Estos métodos hacen uso de bacterias, hongos y plantas brindándoles condiciones óptimas para que estos microorganismos sean más susceptibles a transformar contaminantes mediante el consumo de nutrientes, oxígeno u otros aceptores de electrones alternativos. Es importante también tomar en cuenta las características del terreno como es el tipo de suelo, textura, temperatura y el pH (Ortiz, Sanz, Dorado, & Villar, 2007).

1.9.1.1 Métodos biológicos *in situ*

Es el método más adecuado, ya que no es necesario el traslado del material contaminado a otro lugar (Mauricio et al., 2013), sin embargo deben valorarse numerosos factores como es el caso de costos, dificultad de acceso a la zona contaminada, tiempo de duración del proceso, potencial de peligro de que la contaminación se expanda a zonas aledañas (Korda, Santos, Tenente, & Santos, 1997). Existen diferentes formas de tratamiento biológico “*in situ*” que se presentan como resumen en la tabla 3:

Tabla 3: Métodos “in situ”

Bioventeo	Consiste en suministrar aire al suelo contaminado para promover la actividad de los microorganismos presentes en el subsuelo y biodegradar los hidrocarburos.
Inyección de aire a presión	Se inyecta aire a presión en el suelo para que se lleven a cabo dos mecanismos de remoción del contaminante, la volatilización de compuestos de la zona insaturada y la fase acuosa y la biodegradación.

Atenuación natural	Utiliza procesos fisicoquímicos de interacción contaminante-suelo y los procesos de biotransformación natural.
Bioestimulación	Implica la circulación de soluciones acuosas (con nutrientes y oxígeno) a través del suelo contaminado, para estimular la actividad de los microorganismos nativos, y mejorar la biodegradación de contaminantes orgánicos o bien, la inmovilización de contaminantes inorgánicos.
Bioaumentación	Consiste en la introducción de microorganismos modificados genéticamente en el medio, con el fin de mejorar la biodegradación.

Nota: *Se observan algunos métodos in situ que son aplicados en la biorremediación de suelos contaminados*

Fuente: *(Mauricio R., 2013)*

Elaborado por: *Los autores*

1.9.1.2 Métodos biológicos *ex situ*

Consiste en confinar y tratar el suelo contaminado en instalaciones adecuadas para aplicar el respectivo tratamiento. Para la selección del método se debe tener en cuenta factores como: el tipo de contaminante y la factibilidad económica (Mauricio R., 2013).

Este método tiene 3 técnicas de tratamiento descritos en la siguiente tabla:

Tabla 4: *Métodos “ex situ”*

Landfarming	Consiste en excavar los suelos contaminados, expandirlos sobre un área amplia y estimular las variables de incidencia en el proceso para promover la actividad de los microorganismos encargados de degradar los contaminantes.
Biopilas	Es la formación de pilas de material biodegradable formadas por suelo contaminado y materia orgánica en condiciones favorables para el desarrollo de los procesos de biodegradación.
Biorreactor	Se trata excavar el suelo contaminado y luego introducirlo en un reactor añadiendo nutrientes, agua, y colonias microbianas adecuadas para que se lleve a cabo la degradación.

Nota: *Se observan algunos métodos in situ que son aplicados en la biorremediación de suelos contaminados*

Fuente: *(Mauricio R., 2013)*

Elaborado por: *Los autores*

1.10 Biorremediación de suelo contaminado con metales pesados

Es un método basado en el uso de la capacidad metabólica que poseen los microorganismos para depurar suelos contaminados (González Rojas, 2011). Por otra parte, el manual industrial de microbiología y biotecnología de (Baltz, Davies, & Demain, n.d.), define a la biorremediación como un grupo de tratamientos a fin de evitar la contaminación de un medio aplicando sistemas biológicos que destruyen los compuestos químicos en otros menos tóxicos. Sin embargo, uno de los factores limitantes para obtener resultados eficaces son los nutrientes esenciales como el nitrógeno y fósforo, y los parámetros fisicoquímicos (pH, humedad, potencial redox), o en casos extremos la inexistencias poblacionales microbianas con potencial enzimático para degradar los compuestos tóxicos (González Rojas, 2011). El proceso de recuperación de suelos contaminados con metales pesados se conoce como biosorción mismo que capta los metales con biomasa a través de mecanismos físico-químicos como la adsorción o el intercambio iónico (Cañizares-Villanueva, 2000), el proceso engloba diferentes mecanismos de los que depende el sorbato, sorbente, factores del medio ambiente, entre otros (Areco, 2011). Cabe recalcar que la unión de metales a la biomasa de microorganismos vivos o muertos son de gran importancia en el campo de la biotecnología dentro de la línea de investigación de la remoción de metales de alta densidad (Park, Yun, Jo, & Park, 2005); (Ahmad, Ansari, & Aqil, 2006).

Tabla 5: Factores que afectan la biorremediación

Biológicos	Ambientales	Físico-químicos
	✓ Temperatura	
✓ Características de la densidad microbica, diversidad genética, potencial catabólico	✓ O ₂	✓ Propiedades de los contaminantes
	✓ Humedad	✓ Estructura y tipo de suelo
	✓ pH	✓ Presencia del contaminante
	✓ Sorción	✓ Contenido orgánico en el suelo
	✓ Grado de contaminación	

Nota: Se observa los distintos factores biológicos, ambientales y fisicoquímicos que afectan el proceso de biorremediación.

Fuente: (Ali, Khan, Anwar Sajad, Lower, & Pakhtunkhwa, 2013)

Elaborado por: Los autores

Existen diferentes técnicas de biorremediación de las cuales se hace énfasis en la bioestimulación, bioaumentación y fitoextracción, ya que son las que se utilizó en este ensayo.

1.10.1 Bioestimulación

Involucra la modificación del entorno mediante la estimulación de los microorganismos presentes en el suelo que poseen una capacidad biodegradadora, el proceso se lo puede lograr mediante la introducción de varios nutrientes y aceptores de electrones, como nitrógeno, oxígeno o carbono (por ejemplo, en forma de melaza, urea, 10-30-10), que se encuentran disponibles en cantidades mínimas para limitar la actividad microbiana (Adams, Fufeyin, Okoro, Ehinomen, & Biology, 2015).

Es decir, consiste en el mejoramiento del medio en el cual se encuentran los microorganismos mediante la adición de nutrientes para así brindarles las condiciones adecuadas. Entre los nutrientes esenciales para un buen metabolismo de los microorganismos autóctonos están los fosfatos y nitratos, y el pH y oxígeno como parámetros fisicoquímicos importantes para un buen desarrollo de los microorganismos. Esta técnica tiene como base a los microorganismos autóctonos y su capacidad para degradar el contaminante (Gallego, Loredó, Llamas, Vázquez, & Sánchez, 2001).

Respecto a la adición de nutrientes sus concentraciones deben ser óptimas para lograr un máximo crecimiento de la población degradadora (Morra, 1996).

En efecto (Beltrán-Pineda & Marcela Gómez-Rodríguez, 2016) en su artículo denominado “Biorremediación de metales pesados cadmio, cromo y mercurio, mecanismos bioquímicos e ingeniería genética,” mencionan a la bioestimulación como una técnica de remediación basada en procesos microbianos los mismos que pueden disminuir la toxicidad y la biodisponibilidad de los metales pesados.

En esta técnica es común la adición de **nitrógeno, fósforo y potasio** proporcionando la relación *carbono: nitrógeno: fósforo* (C: N: P) de manera adecuada (Atlas, 1995).

1.10.1.1 Papel del nitrógeno en el suelo

Este elemento desempeña un papel fundamental, está asociado a las células bacterianas para la generación de aminoácidos, proteínas, y ácidos nucleicos. Los suelos ricos en nitrógeno tienen una indiscutible actividad metabólica y una eficiente capacidad de producir biomasa vegetal, además estimula la actividad biológica de los microorganismos del suelo incrementando la actividad enzimática (Acuña, Pucci, & Pucci, 2008).

1.10.1.2 Papel del fósforo en el suelo

Se presenta en forma de fosfatos, es un nutriente poco móvil a diferencia del nitrógeno y azufre que son nutrientes que se absorben en forma aniónica, debido a sus propiedades, se producen formas fosforadas no disponibles para las plantas por lo que se considera uno de los nutrientes más críticos. También desempeña un rol metabólico ya que actúa como acumulador de energía y combustible para el desarrollo de sus respectivas actividades bioquímicas de las células vivas. (Sanzano, 1999).

1.10.1.3 Papel del potasio en el suelo

Macronutriente absorbido en grandes cantidades por las plantas, se encuentra por debajo del nitrógeno y en ciertas ocasiones del calcio, presenta problemas de disponibilidad, por lo general el abastecimiento de este elemento en el suelo es admisible debido a que existen diferentes condicionantes (origen del potasio, textura y humedad del suelo) que perturban su disponibilidad. Su escases en el suelo también es por las grandes cantidades que requieren absorber las plantas (cuatro veces más que el fósforo y casi a la par que el nitrógeno) y por su gran importancia en la intervención de las funciones principales de la planta (Larriva Coronel, 2006). A comparación del fósforo y nitrógeno, el potasio se encuentra en el suelo en forma de catión cargado positivamente (K^+) y no causa problemas ambientales cuando se libera del suelo interviniendo de forma positiva en la estimulación de la actividad biológica de los microorganismos presentes en el suelo (Sanzano, 2016).

1.10.1.4 Capacidad de campo

Es la cantidad de agua por volumen de suelo que está presente en un lugar, resultado complicado encontrar un equilibrio entre el volumen del suelo y cantidad de agua, secuencialmente estos dos componentes sufren alteraciones en sus propiedades físicas (cambios mecánicos, transporte de solutos, variaciones térmicas, entre otras) (Rivera Ortiz et al., 2018) . Estas alteraciones ocasionadas por la cantidad de agua en el suelo se conoce como humedad. Conocer el contenido de humedad del suelo y los efectos provocados en sus propiedades físicas es de gran importancia en la actividad microbiana y el crecimiento de las plantas. La humedad es un parámetro muy importante dentro del proceso de biorremediación, ya que interviene de manera indescriptible en la actividad biológica de los microorganismos (Zamora Cardona & Cristancho, 2013).

1.10.2 Bioaumentación

Consiste en el incremento de microorganismos eficientes y exógenos en el medio con el fin de mejorar el proceso de remediación (Hurst et al., 2007). Sin embargo, existe aún la incertidumbre sobre si los microorganismos son capaces o no de permanecer en el sustrato contaminado. Existen propuestas de recuperación del suelo mediante la técnica de bioaumentación de microorganismos para sitios de disposición final de residuos sólidos mediante el uso de microorganismos especializados y exógenos en el lugar contaminado con el fin de optimizar la remediación (Rodríguez & Ruiz, 2016). Sin embargo, no existen muchos estudios que demuestren su eficiencia de manera “*in situ*” debido a un sin número de razones que afectan este proceso como: la presencia de depredadores y abundante materia orgánica (Providenti, Lee, & Trevors, 1993) y la competencia de microorganismos introducidos con la población nativa (Alisi et al., 2009).

1.10.2.1 El género fúngico *Trichoderma spp* y la biorremediación de suelos contaminados con plomo y cobre

El género *Trichoderma spp* es de gran importancia para el desarrollo de la ciencia ya que es uno de los mas investigados por la agricultura y la biotecnología gracias a las características antifúngicas de sus metabolitos secundarios. Se lo puede encontrar ampliamente distribuido en todas las latitudes, zonas agrícolas, bosques nativos y lugares que contienen materia orgánica. Son excelentes degradadores y muy resistentes por su elevada capacidad de multiplicación conidial (Arevalo S., 2018). Este género tiene el potencial de sintetizar y liberar enzimas como las polisacararas, celulasas, xilanasas y quitinasas, las mismas que son utilizadas en procesos industriales y biotecnológicos. Este género fúngico inmoviliza los metales mediante mecanismos fisiológicos y bioquímicos que facilitan la quelatación, acumulación y biosorción, entre otros, es importante mencionar que el género *Trichoderma spp* no elimina metales pesados de matrices

ambientales sino los inmoviliza y reduce su disponibilidad conociéndose a este proceso como biosorción (Argumedo-Delira, Alarcón, Ferrera-Cerrato, & Peña-Cabriales, 2009).

1.10.2.2 El género fúngico *Penicillium spp* y la biorremediación de suelos contaminados con plomo y cobre

Según (Rivera, M.; Sandoval, C.; Guzmán, J.; Avila, M. y Gutiérrez, 2003) los hongos filamentosos del genero *Penicillium spp* y *Aspergillus spp* poseen la capacidad de desarrollarse en un rango amplio de pH y son tolerantes a elevadas concentraciones de metales pesados que se encuentran en los suelos. Este estudio ha descrito que la biomasa de algunos hongos como: *Rhizomucor arrhizu spp*, *Candida tropicalis spp*, *Penicillium chrysogenum spp*, *Aspergillus carbonarius spp* y *Mucor hiemalis spp*, poseen la capacidad de bioacumular metales pesados de forma pasiva, por lo que *Penicillium spp* es muy eficiente en la reducción de la concentración de metales pesados. Las cepas de este tipo de hongo son usados en ensayos de técnicas de biorremediación mediante la inmovilización de superficies inertes, dando buenos resultados. Estas cepas tienen la capacidad de biosorber y bioacumular los metales pesados en su biomasa, disminuyendo la concentración de estos en lugares con altos niveles (Nuñez Chves, 2007). Según (Torres-Moreno, 2018), *Penicillium spp* no produce cambios significativos en la degradación de celulosa al igual que el sistema convencional de compostaje. El comportamiento de esta cepa dio resultados positivos en la degradación de elementos con alta densidad, los mismos que contaminaban matrices ambientales. Por otra parte, el uso potencial del género *Penicillium spp* aislado de una mina contaminada por metales pesados dieron resultados positivos especialmente por la capacidad que tiene esta cepa para bioacumular iones metálicos. Según (Sánchez, Marrugo, & Urango, 2017) recomienda utilizar esta cepa en procesos de biorremediación ya que es un biosorbente rentable y de fácil cultivo.

1.10.3 Fitorremediación

Técnica de remediación que utiliza cultivos de plantas, enmiendas y métodos agronómicos para acumular, estancar y reducir la toxicidad de los contaminantes presentes en el suelo (Rufus L. Chaney et al., 1997). Este grupo de fitotecnologías posee un gran número de ventajas, entre ellas, la economía y la limpieza. Se destacan por no hacer uso de químicos ni afectar las propiedades del suelo ya que únicamente emplean conocimientos agrícolas. Además, es importante mencionar que este proceso se lo lleva a cabo de manera “*in situ*” evitando altos costos de transporte (Ecosistemas, 2007). Según (Marrero-Coto, Amores-Sánchez, & Coto-Pérez, 2012) hay diferentes tipos de fitotecnologías para suelos contaminados tales como: fitoextracción, fitoestabilización, fitodegradación, fitovolatilización.

1.10.3.1 Fitoextracción de metales pesados

Procedimiento conocido como fitoacumulación ó fitoabsorción, consiste en utilizar la capacidad que poseen las plantas para absorber y extraer el contaminante del suelo, especialmente metales pesados por medio de sus raíces y así acumularlos en sus tallos y hojas (Bayón Sanz, 2015).

Según (Vangronsveld et al., 2009) las plantas fitoextractoras idóneas para la absorción de metales pesados de suelos contaminados deberían tener las siguientes características: crecimiento propicio, alta generación de biomasa, sistema radicular ramificado y distribuido, capacidad de acumular metales pesados, transportar los metales pesados desde la raíz hasta los tallos y hojas, tolerar los efectos tóxicos de los metales pesados, adaptarse a las condiciones ambientales y climáticas de la zona y tener la capacidad de resistencia a patógenos y plagas en cultivos y cosechas, y finalmente evitar que los herbívoros se contaminen por medio de la cadena alimentaria.

1.10.3.1.1 Plantas hiperacumuladoras de metales pesados

Dentro de las características de las plantas está la de absorción de metales del suelo en distinto grado, esto depende de la especie vegetal, sus propiedades y contenido de metales en el suelo (Baker, 1981) .

Existen plantas que absorben metales pesados del suelo y los acumulan en su biomasa aérea de una manera no tóxica (estrategia acumuladora). En la siguiente figura se observa la variación en el comportamiento de la concentración de los metales pesados en el suelo y en las plantas hiperacumuladoras.

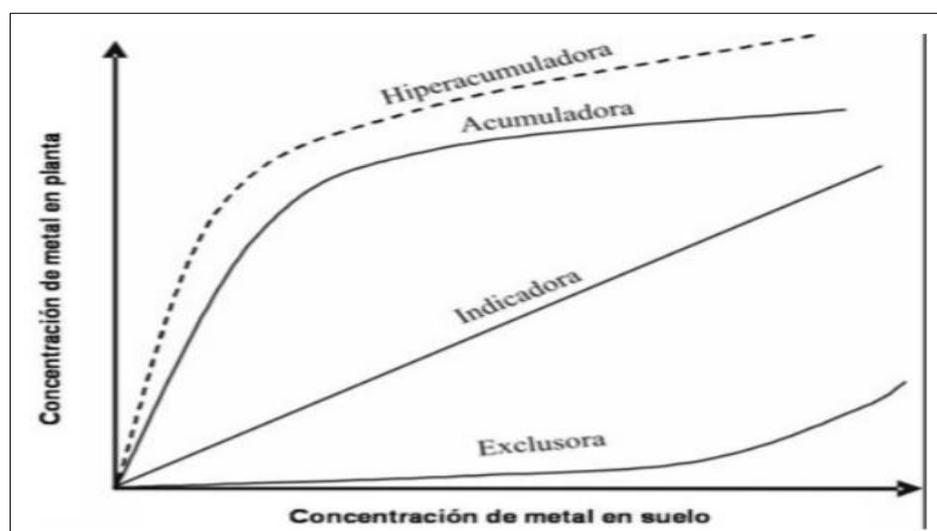


Figura 1: Respuestas típicas de las plantas frente a metales pesados en el suelo
Fuente: (Adriano, 2001)

Algunas de estas especies de plantas no pueden completar su ciclo vital. Cuando se desarrollan en suelos normales necesitan de metales pesados como nutrientes para su crecimiento. A estas plantas se las conoce como hiperacumuladoras. Este tipo de especies vegetales logran acumular metales en las hojas entre 10 y 100 veces más que las normales (R L Chaney et al., 2000). Por la capacidad acumuladora de estas plantas en sus raíces y hojas y de sobrevivir y desarrollarse en suelos contaminados son recomendables para la aplicación de la técnica de fitoextracción.(Krämer, Cotter-Howells, Charnock, Baker, & Smith, 1996); (Schat, 2002); (Vázquez, Goldsbrough, & Carpena, 2006).

2 CAPITULO

MATERIALES Y METODOS

2.1 Ubicación del área de estudio

El **Campamento Guarumales** se encuentra en las inmediaciones del proyecto Paute Molino aproximadamente a 3 horas de la ciudad de Cuenca. Los accesos viales al campamento son: 1) Vía Zhoray (Azogues) – Guarumales, 2) Vía Méndez – Guarumales y 3) Vía Cuenca - Guarumales.

Geográficamente se encuentra en las coordenadas:

Tabla 6: Coordenadas UTM del Campamento Guarumales

COORDENADAS	
LATITUD	777783.5775
LONGITUD	9714749.2217

Fuente: (CELEC EP, 2018)

Elaborado por: Los autores

2.2 Características del área de estudio

2.2.1 Geología

Las características geológicas del área de estudio se obtuvieron en base a la información proporcionada por el CODIGEM (Geological and Metal Occurrence Maps of the Southern Cordillera Real and El Oro Metamorphic Belts Ecuador) (CODIGEM, 1994).

2.2.2 Topografía

El estudio topográfico se hizo en base a la clasificación de pendientes (MAGAP, 2018).

Tabla 7: Clasificación de pendientes de acuerdo al MAGAP

Tipo de Pendiente	Pendiente (%)
Plano a casi plano	0 – 5
Suave o ligeramente ondulado	5 – 12
Moderadamente ondulado	12 – 25
Colinado	25 – 50
Escarpado	50 – 70
Montañoso	70

Fuente: (MAGAP, 2018)

Elaborado por: Los autores

2.2.3 Precipitación, humedad y temperatura

En base a la información proporcionada por la estación climatológica del departamento de mantenimiento civil de la Unidad de Negocio Hidropaute.

2.3 Determinación de las áreas de intervención

Se seleccionaron en base a los análisis de suelo que maneja la empresa, este procedimiento se encuentra dentro del programa de monitoreo y seguimiento del Plan de Manejo Ambiental (CELEC, 2017).

Tabla 8: Límites permisibles de cobre y plomo en un suelo de uso industrial

Elemento	Unidades	Uso de Suelo “Industrial”
Cobre (Cu)	mg/kg	91
Plomo (Pb)	mg/kg	150

Fuente: (TULSMA, 2017)

Elaborado por: Los autores

Las áreas que forman parte de estudio son: 1.- Expendio de combustible (A1G), 2.-Taller de carpintería (A2TC), 3.-Chatarrera (A3CH), 4.-Taller mecánico (A4TM).

La tabla 9 demuestra las concentraciones de las áreas que exceden la normativa ambiental ecuatoriana.

Tabla 9: Resultado de análisis de suelos para las áreas del campamento Guarumales

Áreas	A1G	A3CH	A4TM	A2TC	
Fecha Muestreo	20/03/2018				
Hora de Muestreo	12:20	13:51	13:30	13:40	
Parámetro (Unidades)	Método	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado
pH	PEE-GQM-FQ-53	7,4	6,56	5,88	6,99
Cobre mg/Kg	3120 B PEE-	198,670	151,39	104,75	316,53
Plomo mg/Kg	GQM-FQ-54	207,100	94,90	63,20	1.698,50

Fuente: (CELEC EP, 2018)

Elaborado por: Los autores

2.3.1 Levantamiento topográfico

Se realizó un levantamiento de tipo catastral, a la vez que se procesaron las coordenadas tomadas con GPS mediante el paquete de información geográfico “ArcGis” para obtener planos catastrales de las áreas (Wolf, Brinker, & De la Cera Alonso, 1997).

2.4 Plan de muestreo para las áreas de estudio

Las áreas a ser recuperadas mediante las técnicas de biorremediación presentan regularidad por lo que se realizó un “muestreo aleatorio” (Ruiz, J. Ariza, J. Fernández, 1999). Es importante mencionar que la norma ambiental establece criterios para la toma de muestras sugiriendo que cuando el área contaminada es pequeña se tomará muestras al azar que cubran la totalidad del área (TULSMA, 2017). La cantidad en peso de la muestra no debe ser menos de 500 g. se recomienda muestras de 2 Kg. (Sanabria, 2008).

2.4.1 Muestreo por área

Se colectaron las muestras de suelo a 20CM de profundidad, posteriormente se depositaron en fundas de polietileno con cierre hermético y finalmente en un cooler de espuma flex para el transporte (Mendoza & Espinoza, 2017) (Anexo 3).

2.5 Siembra y aislamiento *in vitro* de cepas fúngicas

Para la siembra y aislamiento se utilizó el medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA).

2.5.1 Placas de suelo Warcup

Las placas se preparan dispersando pequeñas cantidades (0,2 – 5 mg) de suelo pulverizado en una caja Petri estéril con medio de cultivo PDA, se adiciona las partículas y se agita lentamente. Este método es sencillo y es bueno para la identificación preliminar o rápida de microorganismos en el suelo, sin embargo las colonias jóvenes incrustadas en el agar son difíciles de remover (Mueller, Bills, & Foster, 2004).

2.6 Ubicación taxonómica

Mediante el análisis microscópico y la utilización de claves taxonómicas se realizó el reconocimiento de las estructuras fúngicas, mediante tinción con fucsina e hidróxido de potasio (Esaú López-Jácome et al., 2014). (Anexo 5).

2.7 Preparación del suelo previo a la aplicación de las técnicas de biorremediación

En el área A2TC y A3CH se hizo el desbroce de maleza, en el A1G, A2TC y A3CH se hizo la aireación del suelo permitiendo una mejor oxigenación. Finalmente, en el área A4TM se construyó zanjas y se colocó de un techo para mantener las condiciones climáticas controladas (Anexos 6, 7, 8, 9).

2.8 Bioestimulación

Para determinar la cantidad de nutrientes presentes en el área A1G y A2TC se aplicó el método 4500NC para nitrógeno total, 4500P para fósforo total y 3120B para potasio (SAE, 2005). Luego se aplicó el fertilizante 10-30-10 conocido en el mercado como Fermagri por ser uno de los más completos en cuanto a los requerimientos nutricionales para una adecuada actividad microbiológica (Eugenia et al., 2016). Este fertilizante se aplicó a cada área mediante el método de voleo (AEFA, 2017). La cantidad de fertilizante aplicada es de 45 Kg por cada 441 m² según recomienda el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP, 1998) (Anexo 10).

2.9 Bioaumentación

Mediante inóculos fúngicos se preparó un volumen de 4 litros de solución para la cepa *Trichoderma spp* y *Penicilium spp* respectivamente. Luego se añadió una solución de 30gr de sacarosa disueltas en 500 ml de agua destilada. Finalmente, se aplicó los inóculos fúngicos a las áreas A1G y A2TC con una bomba de fumigar (Fotografía 1 y Anexo 12).



Fotografía 1: Implementos para la fumigación
Fuente: Los Autores

2.10 Fitoextracción

Estudios previos han reportado que la planta de girasol (*Helianthus annuus*) tiene la capacidad de absorber cobre de 105 hasta 125ppm (Pineda, 2004).

En un estudio con plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) se pudo evidenciar una elevada eficiencia de absorción de cobre reduciéndose de 400 μM a 123 μM (Thomas et al., 2003).

En el área “A3CH” se sembró 28 plantas de girasol y 40 plantas de tabaco a una distancia de 60CM entre planta. En el área “A4TM” se sembró 24 plantas de girasol y 30 plantas de tabaco a la misma distancia descrita anteriormente (Anexo 13).

2.11 Monitorización de las áreas de estudio

El estudio se llevó a cabo en un periodo de 3 meses en los cuales se midió el pH (Anexo 14) y temperatura (Anexo 15). Además, para la determinación de cobre y plomo el método utilizado fue absorción atómica (LUTPL-Cu-ABS-019 y LUTPL-Pb-ABS-022) respectivamente (SAE, 2012).

2.12 Análisis estadístico

Se realizó la *prueba T* para muestras independientes mediante el software “**SPSS**”, mismo que permite comparar las medias de dos grupos de datos con el objetivo de aceptar la hipótesis nula o alternativa determinando la existencia del nivel de significancia entre los grupos de datos de los tratamientos empleados (Bellido, González, & Meliá, 2010).

3 CAPITULO

RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Características del área de estudio

3.1.1 Geología

El área está compuesta principalmente por rocas metamórficas indiferenciadas pertenecientes a la edad paleozoica y mesozoica, además está constituida por esquistos grafitosos y meta volcánicos perteneciendo a la Unidad Alao-Paute (Figura 5).



Figura 2: Geología del área de estudio

Fuente: (CODIGEM, 1994)

3.1.2 Topografía

El tipo y porcentaje de pendientes para las áreas de estudio se observan en la tabla

10.

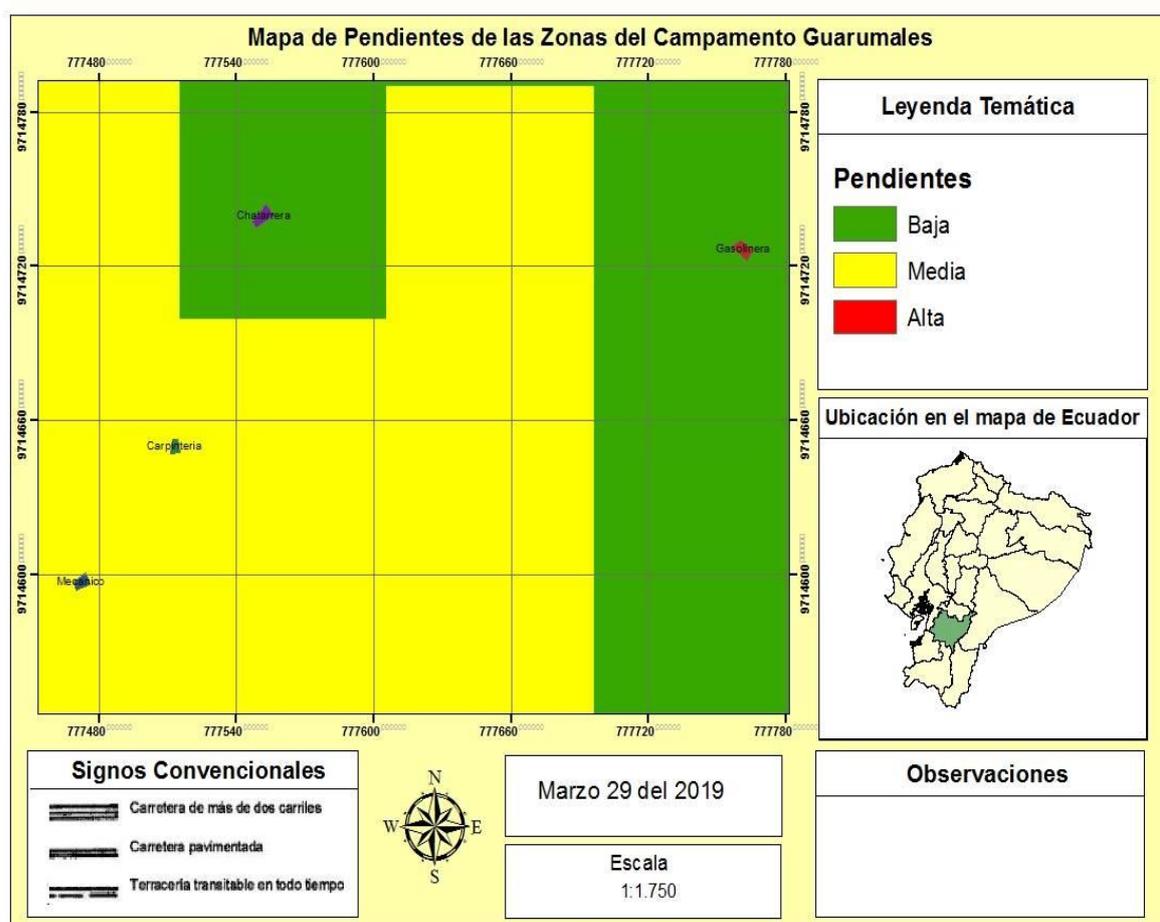
Tabla 10: Tipos de pendientes para las áreas a intervenir

Área	Porcentaje	Tipo de pendiente
A1G	0 – 40,45	Colinado
A2TC	0 – 40,45	Colinado
A3CH	40,45 – 63,74	Colinado - Escarpado
A4TM	40,45 – 63,74	Colinado - Escarpado

Nota: Se observa que el tipo de pendiente en el A1G y A2TC es de tipo colinado, mientras que para el área A3Ch y A4TM el tipo de pendiente es de tipo colinado - escarpado.

Fuente: (MAGAP, 2018)

Elaborado por: Los autores



Nota: Se observa que el grado de inclinación en el área A1G y A2TC es baja, mientras que para el área A3CH y A4TM el grado de inclinación es medio.

Mapa 1: Pendientes correspondientes a las áreas

Fuente: (MAGAP, 2018)

Elaborado por: Los autores

Se observa en el mapa que las áreas tienen un tipo de pendiente baja y media.

3.1.3 Precipitación

En el año 2016 se obtuvieron valores de 3250 mm/año (CELEC EP, 2018). Según (F. X. García, 2012), en el año 2014 se presentaron valores de 2825 mm/año, así como para el año 2015 un valor de 3577 mm/año. Estas condiciones influyen directamente en la saturación de los terrenos con posible erosión de los mismos.

3.1.4 Temperatura

La tabla 11 muestra los valores registrados del año 2018.

Tabla 11: Datos correspondientes a la temperatura del año 2018 de la estación Guarumales

	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	
Año 2018	18,49	20,90	21,25	20,18	18,07	17,36	Promedio Anual 19,37
	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	
	17,58	19,38	19,45	19,01	19,86	19,21	

Nota: El valor mínimo corresponde al mes de Junio con 17.36 °C y un máximo de 21.25°C para el mes de Marzo.

Fuente: (CELEC EP, 2018)

Elaborado por: Los autores

3.1.5 Humedad

La tabla 12 muestra los valores del año 2018.

Tabla 12: Datos correspondientes a la humedad del año 2018 de la estación Guarumales

	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio	
Año 2018	98,50	98,64	96,22	93,79	98,09	96,65	Promedio Anual 97,49
	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	
	98,05	97,20	96,75	98,91	98,34	98,72	

Nota: El valor mínimo corresponde al mes de Abril con 93.79% y un máximo de 98.91 % para el mes de Octubre.

Fuente: (CELEC EP, 2018)

Elaborado por: Los autores

3.2 Levantamiento topográfico de las áreas a intervenir

Haciendo uso de las coordenadas (Tabla 13, 14, 15, 16) y dimensiones obtenidas con el GPS y cinta, se generaron planos planimétricos para las distintas áreas de estudio, además de un mapa que abarca la ubicación espacial de las áreas en el campamento.

- **COORDENADAS: A1G**

Tabla 13: Coordenadas UTM del área A1G

ID	X	Y
1	777763,178	9714721,813
2	777765,865	9714726,108
3	777760,197	9714730,227
4	777755,882	9714727,697

Fuente: Los Autores

Elaborado por: Los autores

- **COORDENADAS: A2TC**

Tabla 14: Coordenadas UTM del área A2TC

ID	X	Y
1	777511,275	9714647,023
2	777515,298	9714647,164
3	777514,199	9714652,668
4	777512,094	9714652,567

Fuente: Los Autores

Elaborado por: Los autores

- **COORDENADAS: CHATARRERA (A3CH)**

Tabla 15: Coordenadas UTM del área A3CH

ID	X	Y
1	777556,465	9714739,914
2	777552,694	9714744,006
3	777546,717	9714737,246
4	777548,851	9714735,111

Fuente: Los Autores

Elaborado por: Los autores

▪ **COORDENADAS: TALLER MECÁNICO (A4TM)**

Tabla 16: Coordenadas UTM del área A4TM

ID	X	Y
1	777475,757	9714596,049
2	777473,896	9714600,473
3	777468,976	9714597,658
4	777470,175	9714593,816

Fuente: Los Autores

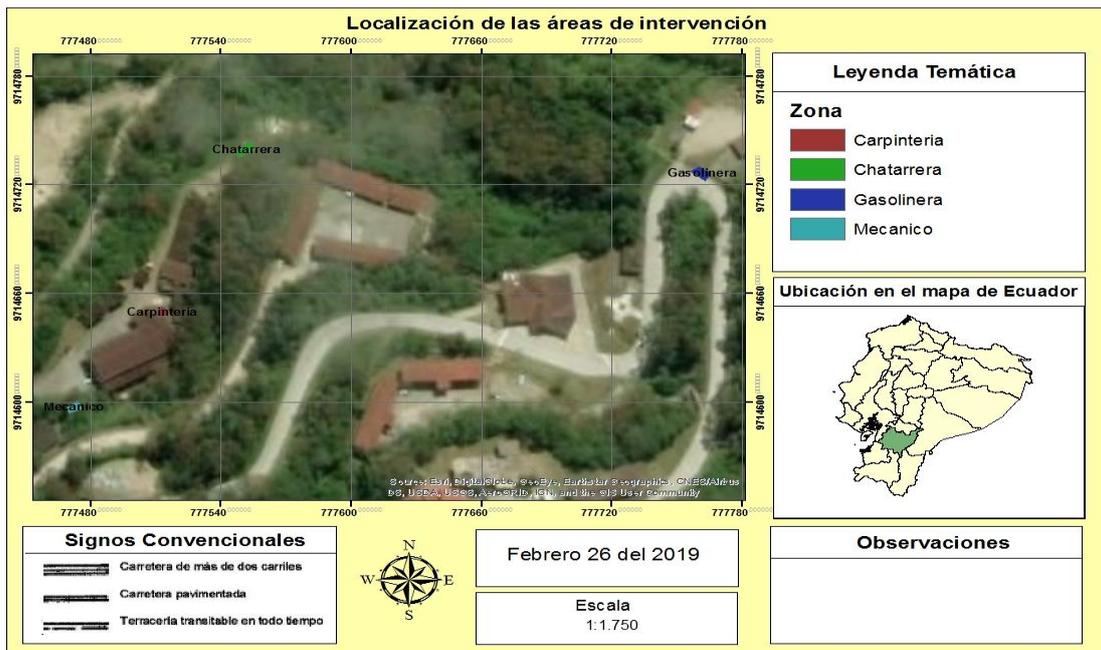
Elaborado por: Los autores



Nota: Se observa en el extremo superior izquierdo la medición del área A1G, seguido del área A2TC en el extremo superior derecho. En el extremo inferior izquierdo observamos la medición del área A3CH seguido del área A4TM en el extremo inferior derecho.

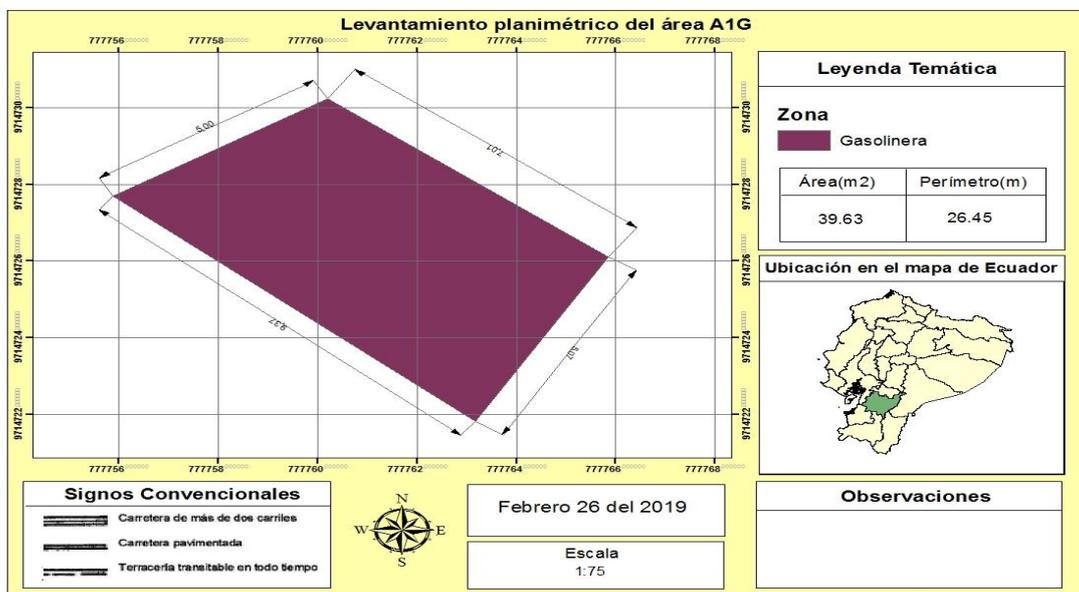
Fotografía 2: Medición de las áreas de estudio

Fuente: Los Autores



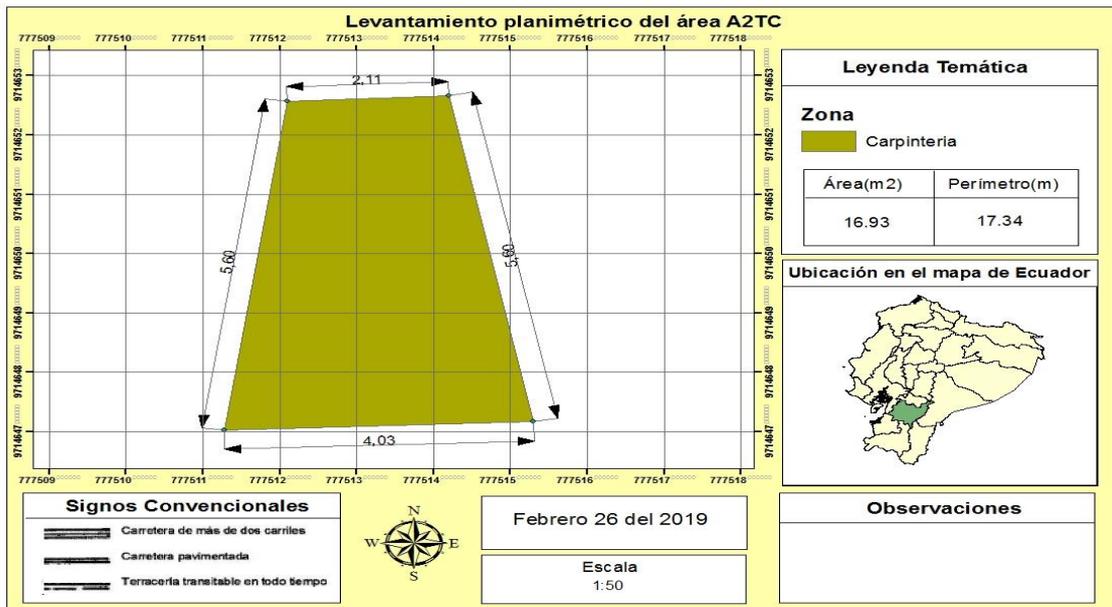
Mapa 2: Ubicación de las áreas de aplicación dentro del Campamento Guarumales
Fuente: (MAGAP, 2018)
Elaborado por: Los autores

El “A1G” comprende un área de 39,63m² y un perímetro de 26,45m (Mapa 3).



Mapa 3: Levantamiento planimétrico del área de Expendio de Combustibles (Gasolinera) “A1G”
Fuente: (MAGAP, 2018)
Elaborado por: Los autores

Por su parte el “A2TC” comprende un área de 16,93 m² y un perímetro de 17,34 m (Mapa 4).



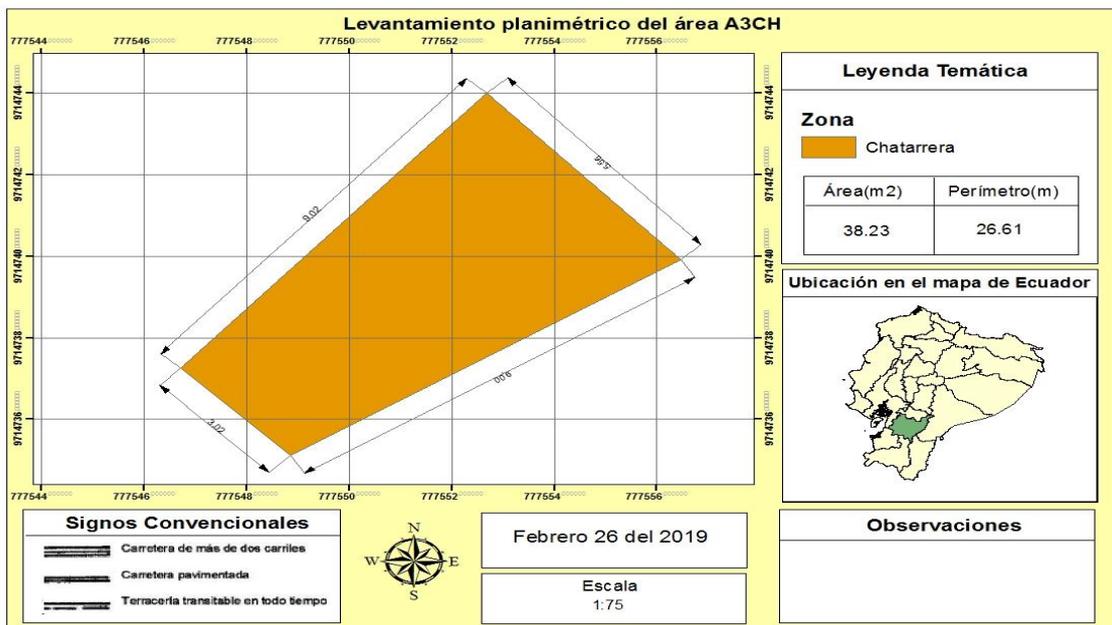
Mapa 4: Levantamiento planimétrico del área de Taller de Carpintería “A2TC”

Fuente: (MAGAP, 2018)

Elaborado por: Los autores

En cambio el “A3CH” tiene un área de 38,23 m² y un perímetro de 26,61 m (Mapa

5).

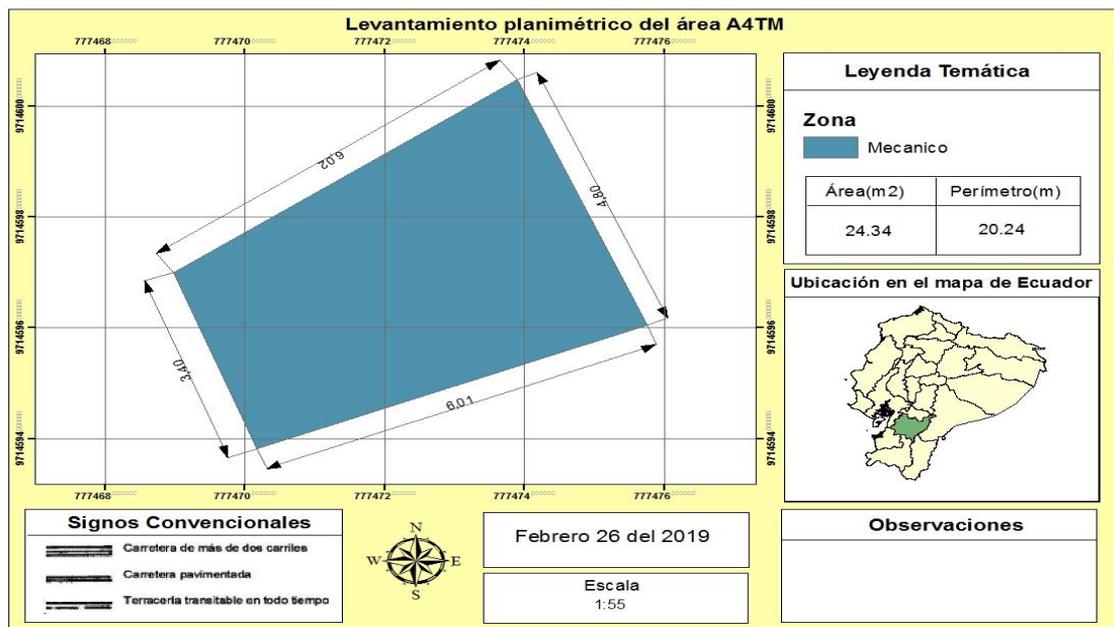


Mapa 5: Levantamiento planimétrico del área de Chatarrera “A3CH”

Fuente: (MAGAP, 2018)

Elaborado por: Los autores

Finalmente para el “A4TM” se tiene un área de 24,34 m² con un perímetro de 20,24 m respectivamente (Mapa 6).



Mapa 6: Levantamiento planimétrico del área de Taller Mecánico “A4TM”

Fuente: (MAGAP, 2018)

Elaborado por: Los autores

Finalmente se resumen los resultados de cada área de estudio (Tabla 17).

Tabla 17: Áreas y Perímetros correspondientes a las áreas de estudio del campamento Guarumales

Área de estudio	Área (m ²)	Perímetro (m)
A1G	39,63	26,45
A2TC	16,93	17,34
A3CH	38,23	26,61
A4TM	24,34	20,24
Total	119,13	90,64

Fuente: Los Autores

Elaborado por: Los autores

3.3 Análisis químico analítico de las áreas A1G y A2TC

Se determinaron las concentraciones de Nitrógeno, Fósforo y Potasio para el área A1G. (Tabla 18).

Tabla 18: Resultados del análisis químico analítico del A1G

Área	A1G	
Fecha	14 de marzo del 2019	
Parámetro	Resultado	Unidades
Nitrógeno total	22,43	mg/kg
Fósforo total	0,3	mg/kg
Potasio	1122,8	mg/kg

Nota: La concentración de nitrógeno se encuentra en un estado óptimo, fósforo en un estado muy bajo así como existe exceso de potasio, por lo que el área se encuentra en un estado bueno.

Fuente: Los autores

Elaborado por: Los autores

De igual manera se determinó las concentraciones de Nitrógeno, Fósforo y Potasio para el área **A2TC**. (Tabla 19).

Tabla 19: Resultados del análisis químico analítico del A2TC

Área	A2TC	
Fecha	14 de marzo del 2019	
Parámetro	Resultado	Unidades
Nitrógeno total	32,63	mg/kg
Fósforo total	0,4	mg/kg
Potasio	1788	mg/kg

Nota: La concentración de nitrógeno se encuentra en un estado medio, fósforo en un estado muy bajo y un exceso de los niveles de potasio determinándose que el área se encuentra en un estado bueno.

Fuente: Los autores

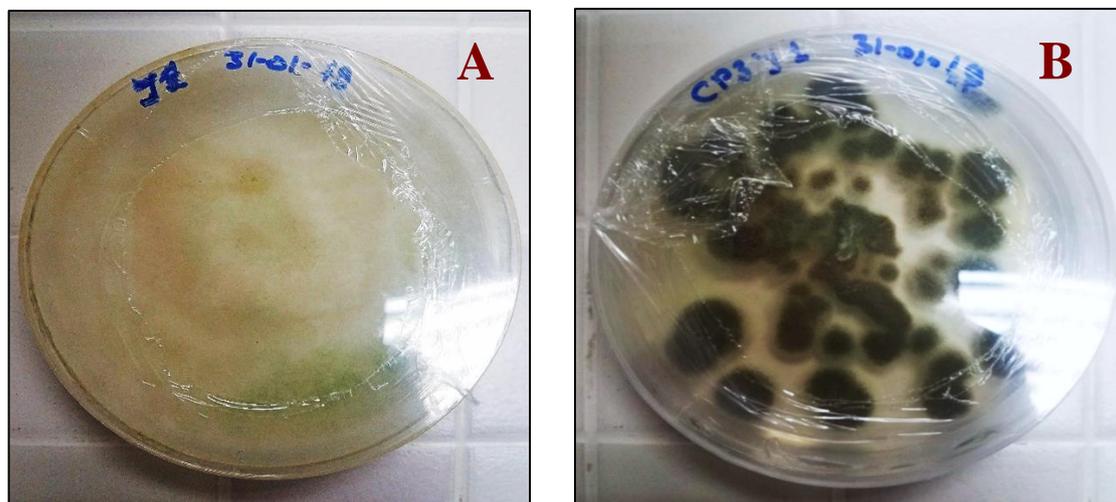
Elaborado por: Los autores

3.4 Hongo nativo predominante en las áreas A1G y A2TC

Se determinó al género fúngico *Rhizopus spp* como el más predominante de las áreas de estudio.

3.5 Cepas fúngicas

Se seleccionaron las cepas fúngicas Y1 (*Trichoderma spp*) y J1 (*Penicilium spp*), (Fungario institucional UPS-Cuenca) (Ortiz Paucay, 2016) (Fotografía 3).



Nota: En la fotografía del extremo izquierdo podemos observar la cepa fúngica *Trichoderma spp* (A), mientras que en el extremo derecho observamos la cepa *Penicilium spp* (B).

Fotografía 3: Cepas fúngicas eficientes

Fuente: Los Autores

3.6 Valoración de los procesos de bioestimulación, bioaugmentación y fitoextracción

3.6.1 Parámetros fisicoquímicos de las áreas de estudio

Durante los 3 meses de valoración se realizó el monitoreo de pH y temperatura del suelo obteniendo los resultados que se indican en la tabla 20 y 21.

Tabla 20 Resultados de monitorización de pH

MONITORIZACIÓN DE pH							
Área	11 de marzo del 2019	20 de abril del 2019		21 de mayo del 2019		20 de junio del 2019	
	Inicial	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)
A1G	7,29	7,31	7,46	6,82	7,57	6,78	7,17
A2TC	6,70	6,07	6,44	5,59	6,69	7,37	7,40
	Inicial	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)
A3CH	5,81	7,39	7,56	7,37	7,37	7,73	7,47
A4TM	8,15	7,49	7,67	7,40	7,72	7,61	7,20

BES: Bioestimulación, **BAM:** Bioaumentación, **FG:** Fitoextracción con Girasol, **FT:** Fitoextracción con tabaco
Nota: Para el área A1G se determinó un pH mínimo de 6,78 y un máximo de 7,57, para el área A2TC se determinó un pH mínimo de 5,59 y un máximo de 7,40, para el área A3CH se determinó un pH mínimo de 5,81 y un máximo de 7,73 y finalmente para el área A4TM se determinó un pH mínimo de 7,20 y un máximo de 8,15.

Elaborado por: Los autores

Tabla 21 Resultados de monitorización de temperatura.

MONITORIZACION DE TEMPERATURA						
Área	20 de abril del 2019		21 de mayo del 2019		20 de junio del 2019	
	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)
A1G	23,65	23,25	25,25	25,30	19,45	19,75
A2TC	22,95	22,70	25,35	25,15	19,40	19,25
----	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)
A3CH	21,40	21,45	24,80	25,05	18,55	18,15
A4TM	21,25	21,45	23,55	23,15	18,40	18,30

BES: Bioestimulación, **BAM:** Bioaumentación, **FG:** Fitoextracción con Girasol, **FT:** Fitoextracción con tabaco
 Para el área A1G se determinó una temperatura mínima de 19,45 °C y un máximo de 25,30 °C, para el área A2TC se determinó una temperatura mínima de 19,25 °C y un máximo de 25,35 °C, para el área A3CH se determinó una temperatura mínima de 18,15 °C y un máximo de 25,05 °C y finalmente para el área A4TM se determinó una temperatura mínima de 18,30 °C y un máximo de 23,55 °C.

Elaborado por: Los autores

3.6.2 Concentración inicial de plomo y cobre en las diferentes áreas de estudio

Luego de haber transcurrido un año de la identificación de la problemática se realizó el respectivo análisis de las áreas para determinar las concentraciones iniciales de plomo y cobre. (Tabla 22).

Tabla 22: Resultados de las concentraciones iniciales de Pb y Cu en las diferentes áreas de estudio

CONCENTRACIONES INICIALES								
FECHA: 14 de Marzo del 2019								
AREAS DE ESTUDIO	A1G		A2TC		A3CH		A4TM	
	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)
PARAMETROS (UNIDADES)								
Cobre (mg/kg)	224,45	240,15	298,96	332,26	304,99	303,89	203,36	218,46
Plomo (mg/kg)	298,1	289,7	412	422,6	-----	-----	-----	-----

BES: Bioestimulación, BAM: Bioaumentación, FG: Fitoextracción con Girasol, FT: Fitoextracción con tabaco

Nota: Se evidencia que todas las concentraciones de plomo y cobre superan la normativa. Las concentraciones máximas corresponden al área A2TC con 422,6 mg/Kg de plomo y 332,26 mg/Kg de cobre.

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

3.6.3 Valoración de plomo y cobre con las técnicas de bioestimulación y bioaumentación

3.6.3.1 Área de expendio de combustibles (A1G)

Luego de la aplicación de las técnicas de biorremediación en el área A1G se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 23: Resultados de las concentraciones de Pb y Cu en el área A1G

AREA	A1G	RESULTADOS					
PARAMETRO (UNIDADES)	METODO	29 DE ABRIL DEL 2019	31 DE MAYO DEL 2019	26 DE JUNIO DEL 2019 (finales)			
		(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)
Plomo (mg/kg)	LUTPL-Pb-ABS-019	74,6	66,2	59,4	66,0	51,4	64,6
Cobre (mg/kg)	LUTPL-Cu-ABS-019	107,0	122,7	100,8	116,1	88,8	103,1

BES: Bioestimulación, BAM: Bioaumentación

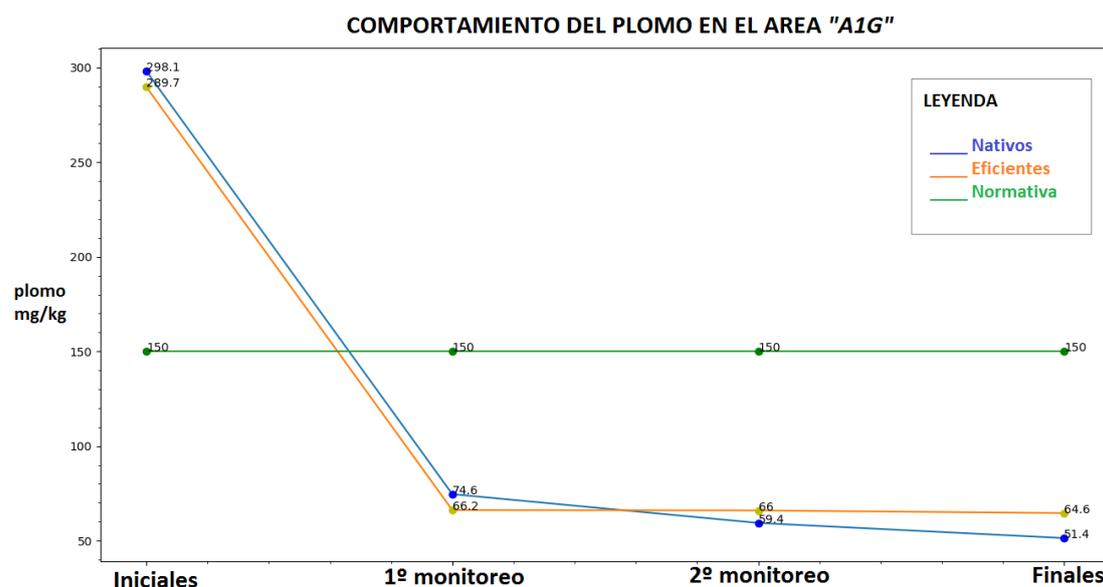
Nota: Las concentraciones del plomo se han reducido, sin embargo se observa que la técnica de bioestimulación con microorganismos nativos ha reducido en mayor cantidad la concentración del metal. De la misma manera se visualiza que la concentración de cobre ha disminuido por debajo de la normativa en el proceso de bioestimulación con microorganismos nativos. En cuanto al proceso de bioaumentación se observa una disminución de la concentración de Cu, aproximándose a la Normativa.

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

Se construye un gráfica para visualizar la variación de la concentración Plomo.

(Gráfico 1).



Nota: En la gráfica se puede observar que la reducción de plomo mediante la técnica de bioestimulación y bioaumentación fueron de 246,7 mg/Kg y 225,1 mg/Kg correspondientemente.

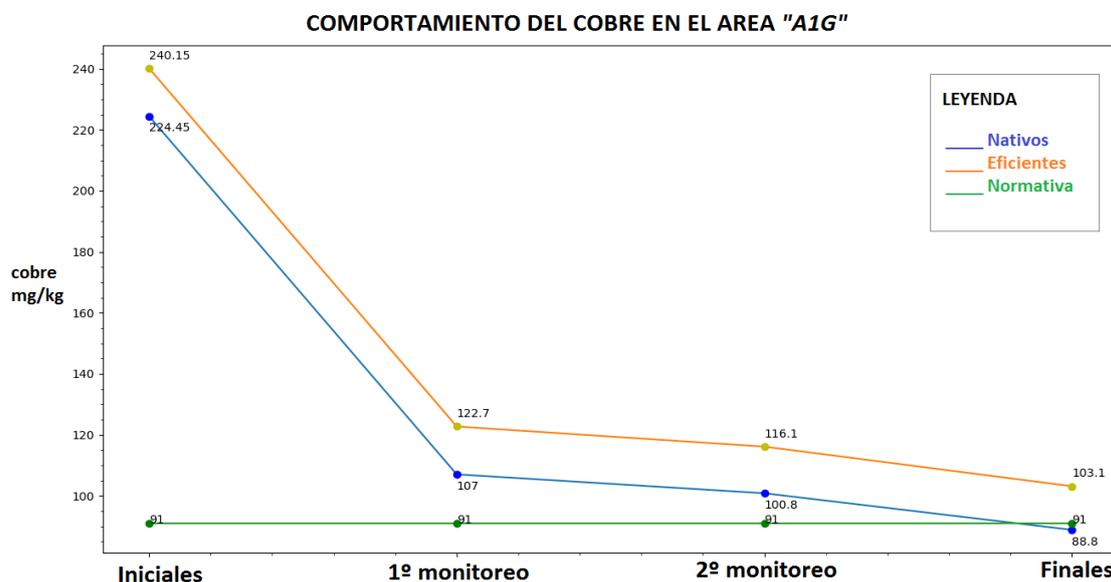
Gráfico 1: Concentraciones de plomo en el A1G

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

Se construye un gráfica para visualizar la variación de la concentración de Cobre.

(Gráfico 2).



Nota: En la gráfica se puede observar que la reducción de cobre mediante la técnica de bioestimulación y bioaumentación fueron de 135,65 mg/Kg y 137,05 mg/Kg correspondientemente.

Gráfico 2: Concentraciones de cobre en el AIG

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

3.6.3.2 Área de Taller de Carpintería (A2TC)

Luego de la aplicación de las técnicas de biorremediación en el área A2TC se obtuvieron los resultados:

Tabla 24: Resultados de las concentraciones de Pb y Cu en el área A2TC

AREA	A2TC	RESULTADOS					
		29 DE ABRIL DEL 2019	DEL 31 DE MAYO DEL 2019	DEL 26 DE JUNIO DEL 2019 (finales)			
PARAMETRO (UNIDADES)	METODO	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)
Plomo (mg/kg)	LUTPL-Pb-ABS-019	74,6	85,2	71,8	77,6	69,0	67,6
Cobre (mg/kg)	LUTPL-Cu-ABS-019	165,0	198,3	141,7	152,3	121,0	119,6

BES: Bioestimulación, **BAM:** Bioaumentación.

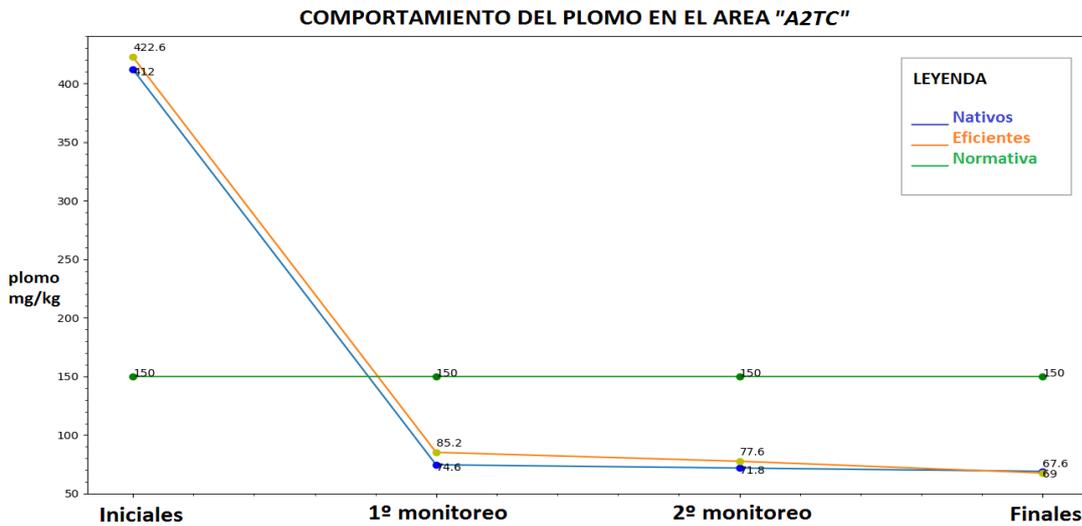
Nota: Las concentraciones del Plomo se han reducido favorablemente con la aplicación de las dos técnicas de biorremediación, sin embargo se observa que con la técnica de BIOAUMENTACION se ha reducido en mayor cantidad del metal. De la misma manera se observa que la concentración de Cobre ha disminuido con ambas técnicas pero se encuentra aún por encima de la normativa.

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

Se realiza una gráfica para visualizar la variación de la concentración Plomo.

(Gráfico 3).



Nota: En la gráfica se puede observar que la reducción de plomo mediante la técnica de bioestimulación y bioaumentación fueron de 343 mg/Kg y 355 mg/Kg correspondientemente.

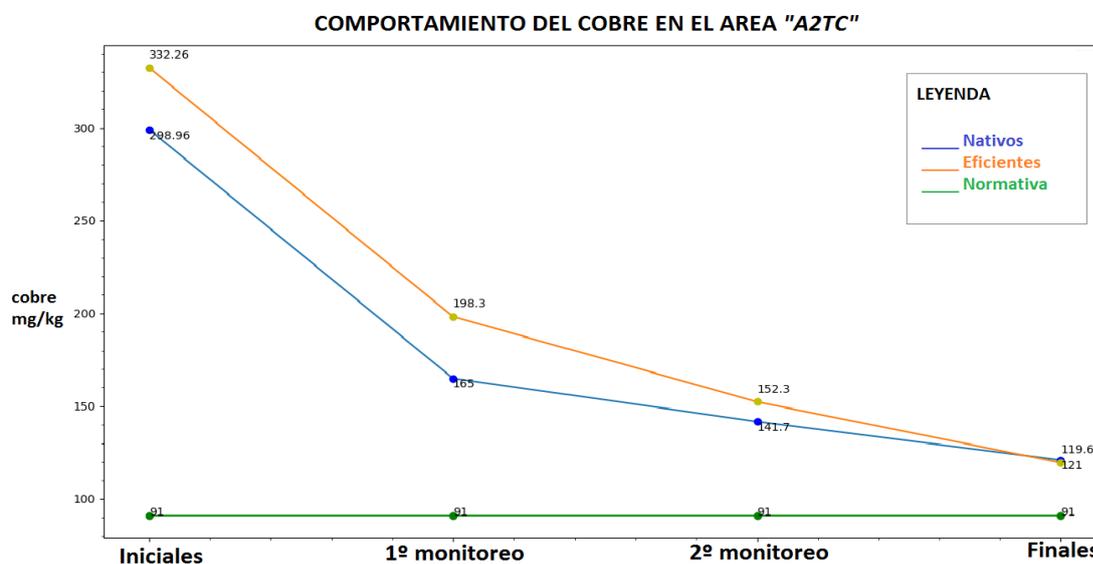
Gráfico 3: Concentraciones de plomo en el A2TC

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

Se realiza una gráfica para visualizar la variación de la concentración Cobre.

(Gráfico 4).



Nota: En la gráfica se puede observar que la reducción de cobre mediante la técnica de bioestimulación y bioaumentación fueron de 177,96 mg/Kg y 212,66 mg/Kg correspondientemente.

Gráfico 4: Concentraciones de cobre en el A2TC

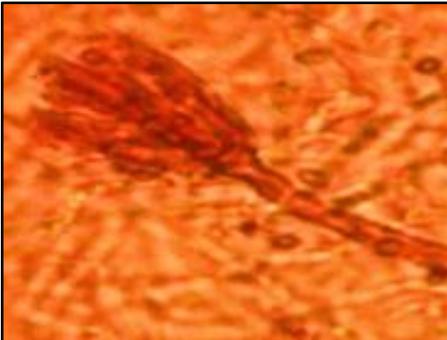
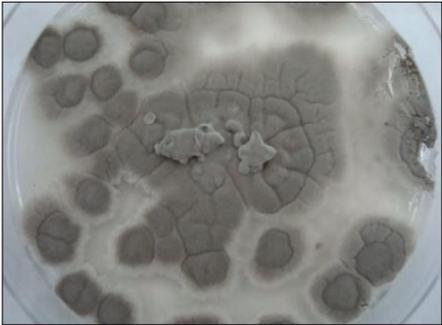
Fuente: (Laboratorios UTP, 2019)

Elaborado por: Los autores

3.6.3.3 Análisis de la carga microbica del suelo en las áreas A1G y A2TC

Posterior a la valoración de metales pesados se realizó un análisis microbiológico (carga microbica) evidenciándose la presencia de los aislados fúngicos en estudio (Tabla 25).

Tabla 25: Microorganismos eficientes

NOMBRE	FOTO MACROSCOPICA	FOTO AL MICROSCOPIO
<i>Trichoderma spp</i> (Y1)		
<i>Penicillium spp</i> (J1)		

Nota: Se observa las estructuras macroscópica y microscópica de *Trichoderma spp* (Y1) (Fotografía superior) y *Penicillium spp* (J1) (Fotografía inferior)

Elaborado por: Los Autores

3.6.4 La fitoextracción y los niveles de cobre

3.6.4.1 Área de Chatarrera (A3CH)

Luego de la aplicación de las técnicas de biorremediación en el área A3CH se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 26: Resultados de las concentraciones de Cu en el área A3CH

AREA	A3CH	RESULTADOS					
		29 DE ABRIL DEL 2019		31 DE MAYO DEL 2019		26 DE JUNIO DEL 2019 (finales)	
PARAMETRO (UNIDADES)	METODO	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)
Cobre (mg/kg)	LUTPL-Cu-ABS-019	122,9	121,8	120,4	115,6	117,0	86,7

FG: Fitoextracción con Girasol, **FT:** Fitoextracción con tabaco

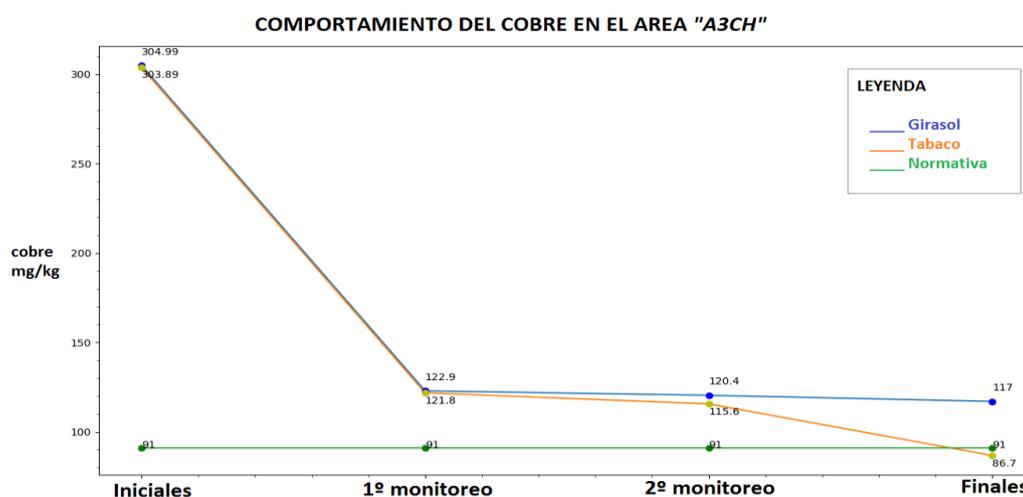
Nota: La concentración de Cobre se ha reducido con el cultivo de tabaco obteniendo concentraciones por debajo de la normativa y con el cultivo de girasol existe una aproximación a la normativa, destacando que ambos cultivos han disminuido de cierta manera la concentración del metal.

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

Se realiza una gráfica para visualizar la variación de la concentración Cobre.

(Gráfico 5).



Nota: En la gráfica se puede observar que la reducción de cobre mediante la técnica el cultivo de Girasol y Tabaco fueron de 187,99 mg/Kg y 217,19 mg/Kg correspondientemente.

Gráfico 5: Concentraciones de cobre en el A3CH

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

3.6.4.2 Área de Taller Mecánico (A4TM)

Luego de la aplicación de las técnicas de biorremediación en el área A4TM se obtuvieron los resultados:

Tabla 27: Resultados de las concentraciones de Cu en el área A4TM

PARAMETRO (UNIDADES)	AREA A4TM METODO	RESULTADOS					
		29 DE ABRIL DEL 2019		31 DE MAYO DEL 2019		26 DE JUNIO DEL 2019 (finales)	
		(FG)	(FT)	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)
Cobre (mg/kg)	LUTPL-Cu- ABS-019	59,4	74,5	48,4	61,7	47,9	53,7

FG: Fitoextracción con Girasol, **FT:** Fitoextracción con tabaco

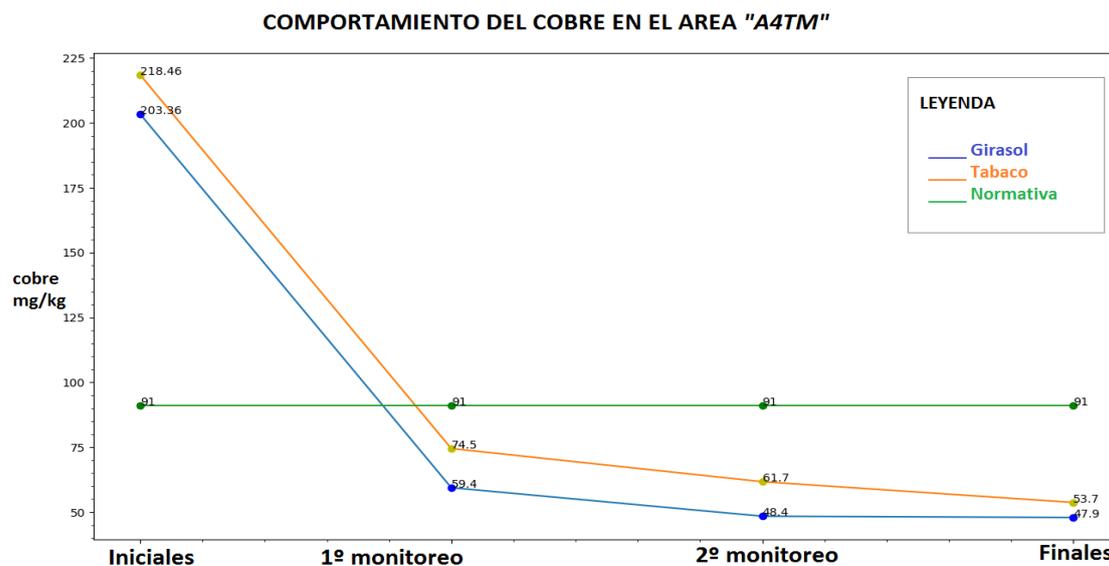
Nota: La concentración de Cobre se ha disminuido con el cultivo de ambas especies de plantas obteniendo concentraciones por debajo de la normativa, sin embargo se observa que las concentraciones con *Helliantus annuus* (girasol) son menores.

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

Se realiza una gráfica para visualizar la variación de la concentración Cobre.

(Gráfico 6).



Nota: En la gráfica se puede observar que la reducción de cobre mediante la técnica el cultivo de Girasol y Tabaco fueron de 155,46 mg/Kg y 164,76 mg/Kg correspondientemente.

Gráfico 6: Concentraciones de cobre en el A4TM

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

3.6.5 Resultados luego de la aplicación de los tratamientos de bioestimulación, bioaumentación y fitoextracción.

Desde el inicio de la aplicación de las técnicas de biorremediación realizado el **1 de Abril del 2019** hasta el monitoreo final realizado el **20 de Junio del 2019**, se han cumplido **81 días (cerca de 3 meses)**, de biorremediación del suelo de las áreas de estudio. Estos 81 días se aproxima a los 90 días que recomienda la revisión bibliográfica.

Tabla 28: Resultados de las concentraciones finales de Pb y Cu en las diferentes áreas

CONCENTRACIONES FINALES								
FECHA: 26 de Junio del 2019								
AREAS DE ESTUDIO	A1G		A2TC		A3CH		A4TM	
	(BES)	(BAM)	(BES)	(BAM)	(FG)	(FT)	(FG)	(FT)
Cobre (mg/kg)	88,8	103,1	121,0	119,6	117,0	86,7	47,9	53,7
Plomo (mg/kg)	51,4	64,6	69,0	67,6	----	----	----	----

BES: Bioestimulación, BAM: Bioaumentación, FG: Fitoextracción con Girasol, FT: Fitoextracción con tabaco

Nota: Los resultados finales indican que 8 concentraciones de 12 cumplen con la Normativa Ecuatoriana TULSMA. Las 4 concentraciones que están fuera de los límites permisibles demuestran que no existe una diferencia significativa entre la normativa y su concentración final.

Fuente: (Laboratorios UTPL, 2019)

Elaborado por: Los autores

3.7 Análisis estadístico

Se plantean las siguientes hipótesis:

Hipótesis para bioestimulación y bioaumentación en el área A1G y A2TC

H₁: Existe diferencia entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de los metales en las técnicas de bioestimulación y bioaumentación.

H₀: No Existe diferencia entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de los metales en las técnicas de bioestimulación y bioaumentación.

Hipótesis para fitoextracción en el área A3CH y A4TM

H₁: Existe diferencia entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de cobre en los cultivos de girasol y tabaco.

H₀: No Existe diferencia entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de cobre en los cultivos de girasol y tabaco.

Los tratamientos aplicados se describen a continuación:

- ✓ **Bioestimulación** con microorganismos nativos.
- ✓ **Bioaumentación** con microorganismos eficientes.
- ✓ **Fitoextracción** con cultivo de girasol.
- ✓ **Fitoextracción** con cultivo de tabaco.

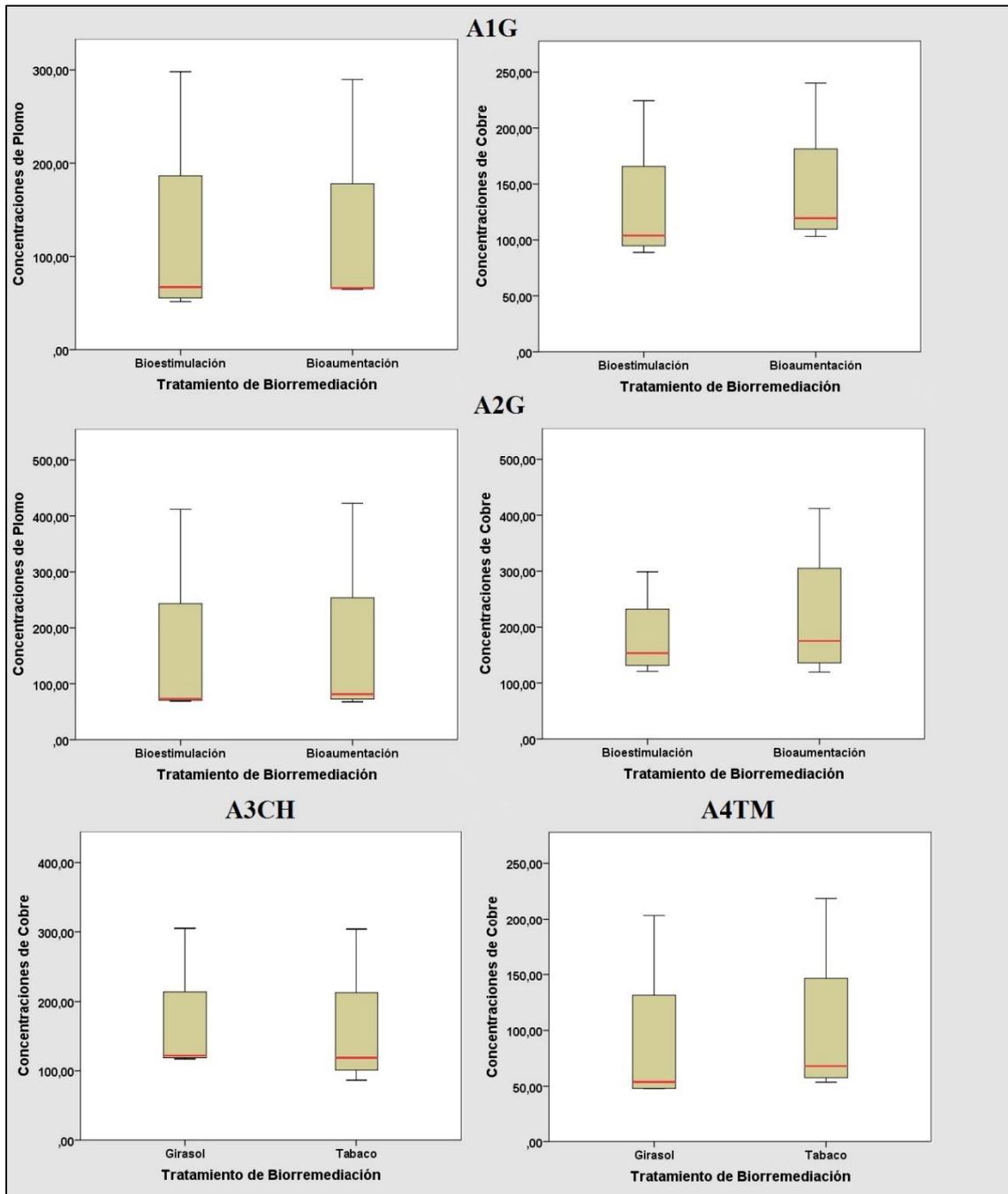
3.7.1 Comparación de medias de los grupos de datos

Tabla 29: Comparación de medias de grupos de datos de las áreas de estudio.

Estadística de grupo		Media				
Área		A1G	A2TC		A3CH	A4TM
Concentraciones de Cobre	BES	130,28	181,67	FG	166,33	89,78
	BAM	145,53	220,55	FT	157,00	102,10
Concentraciones de Plomo	BES	120,88	156,85			
	BAM	121,63	163,25			

BES: Bioestimulación, **BAM:** Bioaumentación, **FG:** Fitoextracción con Girasol, **FT:** Fitoextracción con tabaco
Nota: Se puede observar que las medias de los grupos de datos son diferentes, por tal motivo se aplica la prueba T de muestras independientes para determinar su significancia.

Elaborado por: Los Autores



Nota: En la gráfica observamos la comparación de los grupos de datos para las áreas, evidenciándose que existe una diferencia en sus medianas para lo cual realizamos la prueba T-student y corroborar si esta diferencia es significativa.

Gráfico 7: Comparación de grupos de datos mediante diagrama de cajas

Elaborado por: Los autores

3.7.1.1 Prueba T student para el área A1G

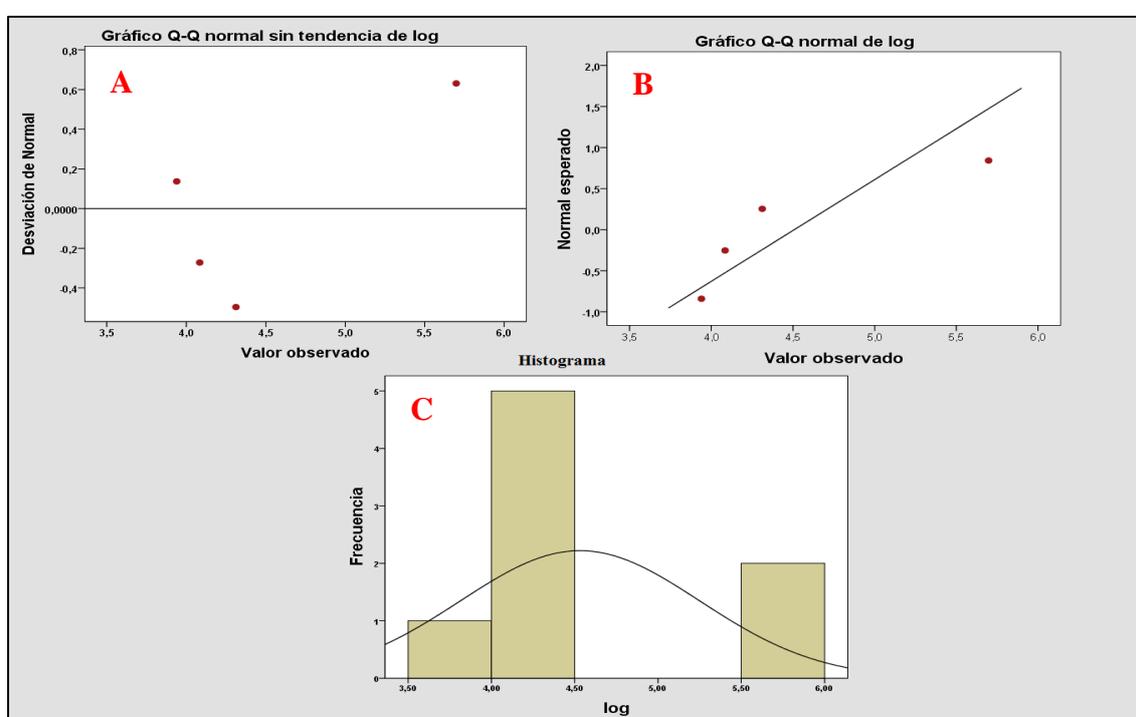
Se ingresaron los datos correspondientes al metal plomo en el software “SPSS statistics” obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 30: Prueba de muestras independientes para el AIG con plomo

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES						
Concentraciones de Plomo	Prueba de Levene		Prueba T “igualdad de medias”			
	F	Sig.	Sig. Bilateral	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					<i>Inferior</i>	<i>Superior</i>
Se asumen varianzas iguales	,012	,915	,993	81,55936	200,31857	198,81857
No se asumen varianzas iguales	-----	-----	,993	81,55936	200,47166	198,97166

Nota: Dado que el estadístico de Levene es de 0,915 se asume que las varianzas son iguales. Por lo tanto el P-valor 0.993 es mayor al nivel de significancia (0.05) por lo que se infiere que no existe una diferencia entre los grupos de datos, aceptando la hipótesis nula.

Elaborado por: Los Autores



En la gráfica se observa el ajuste de los valores (A) mediante una regresión lineal con el fin de asegurar el comportamiento normal de los grupos de datos (Orellana, 2008). Se observan que los valores presentan aleatoriedad (B) y se comportan normalmente (C) sin embargo es importante mencionar que debido al número de muestras es muy pequeño se puede estar generando un valor atípico.

Gráfico 8: Distribución de normalidad para las concentraciones de plomo en el AIG

Elaborado por: Los autores

Para el caso de plomo en el área AIG se acepta la hipótesis **H₀**: que no existe diferencia significativa entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de los metales en las técnicas de bioestimulación y bioaumentación.

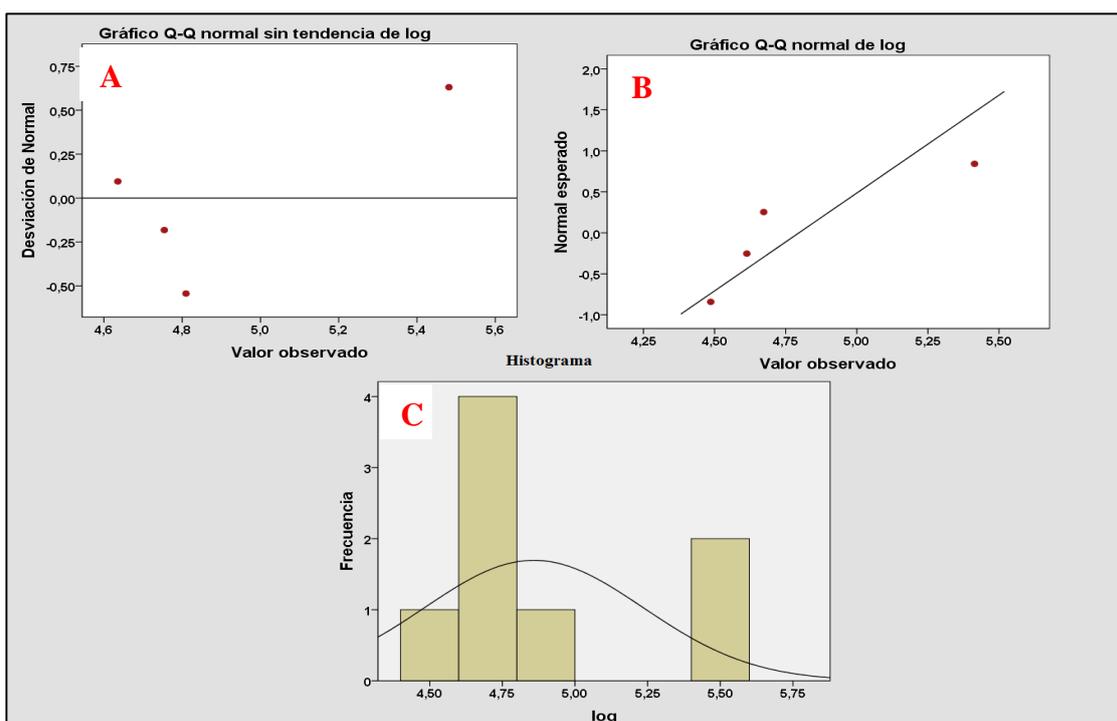
Se ingresaron los datos del metal cobre en el software “SPSS statistics”
obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 31: Prueba de muestras independientes para el AIG con cobre

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES						
Concentraciones de Cobre	Prueba de Levene		Prueba T “igualdad de medias”			
	F	Sig.	Sig. Bilateral	Diferencia de error estándar	95% de confianza de intervalo inferior	de intervalo de diferencia superior
Se asumen varianzas iguales	,000	,992	,746	44,86932	-125,04128	94,54128
No se asumen varianzas iguales	-----	-----	,746	44,86932	-125,04219	94,54219

Nota: Dado que el estadístico de Levene es de 0,992 se asume que las varianzas son iguales. Por lo tanto el P-valor 0.746 es mayor al nivel de significancia (0.05) por lo que se infiere que no existe una diferencia entre los grupos de datos, aceptando la hipótesis nula.

Elaborado por: Los Autores



En la gráfica se observa el ajuste de los valores (A) mediante una regresión lineal con el fin de asegurar el comportamiento normal de los grupos de datos (Orellana, 2008). Se observan que los valores presentan aleatoriedad (B) y se comportan normalmente (C) sin embargo es importante mencionar que debido al número de muestras es muy pequeño se puede estar generando un valor atípico.

Gráfico 9: Distribución de normalidad para las concentraciones de cobre en el AIG

Elaborado por: Los autores

Para el caso de cobre en el área A1G se acepta la hipótesis **H₀: que no existe diferencia significativa entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de los metales en las técnicas de bioestimulación y bioaumentación.**

3.7.1.2 Prueba *T student* para el área A2TC

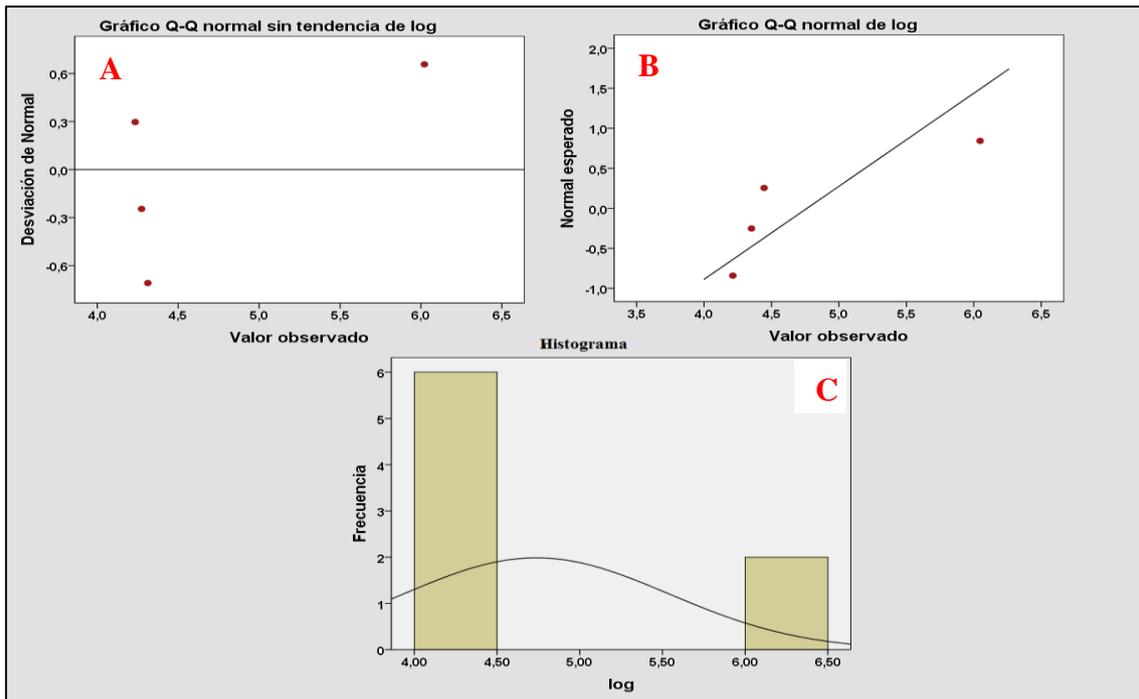
Se ingresaron los datos correspondientes al metal plomo en el software “SPSS statistics” obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 32: Prueba de muestras independientes para el A2TC con plomo

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES						
Concentraciones de Plomo	Prueba de Levene		Prueba T “igualdad de medias”			
	F	Sig.	Sig. Bilateral	Diferencia de error estándar	95% de confianza de intervalo de la diferencia	Inferior Superior
Se asumen varianzas iguales	,001	,974	,960	121,33177	-303,28815	290,48815
No se asumen varianzas iguales	-----	-----	,960	121,33177	-303,30920	290,50920

Nota: Dado que el estadístico de Levene es de 0,974 se asume que las varianzas son iguales. Por lo tanto el P-valor 0.960 es mayor al nivel de significancia (0.05) por lo que se infiere que no existe una diferencia entre los grupos de datos, aceptando la hipótesis nula.

Elaborado por: Los Autores



En la gráfica se observa el ajuste de los valores (A) mediante una regresión lineal con el fin de asegurar el comportamiento normal de los grupos de datos (Orellana, 2008). Se observan que los valores presentan aleatoriedad (B) y se comportan normalmente (C) sin embargo es importante mencionar que debido al número de muestras es muy pequeño se puede estar generando un valor atípico.

Gráfico 10: Distribución de normalidad para las concentraciones de plomo en el A2TC

Elaborado por: Los autores

Para el caso de plomo en el área A2TC se acepta la hipótesis **H₀: que no existe diferencia significativa entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de los metales en las técnicas de bioestimulación y bioaumentación.**

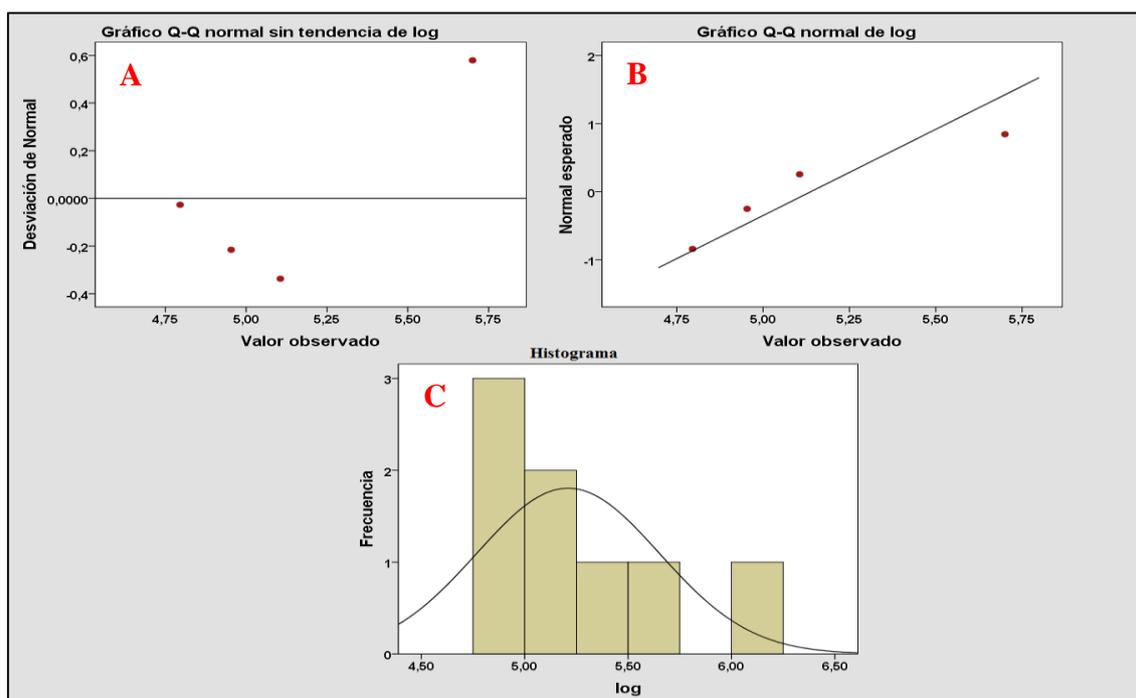
Se ingresaron los datos correspondientes al metal cobre en el software “SPSS statistics” obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 33: Prueba de muestras independientes para el A2TC con cobre

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES						
Concentraciones de Cobre	Prueba de Levene		Prueba T “igualdad de medias”			
	F	Sig.	Sig. Bilateral	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia Inferior Superior	
Se asumen varianzas iguales	,789	,408	,632	77,08784	-227,51214	149,74214
No se asumen varianzas iguales	-----	-----	,636	77,08784	-237,54671	159,77671

Nota: Dado que el estadístico de Levene es de 0,408 se asume que las varianzas son iguales. Por lo tanto el P-valor 0.632 es mayor al nivel de significancia (0.05) por lo que se infiere que no existe una diferencia entre los grupos de datos, aceptando la hipótesis nula.

Elaborado por: Los Autores



En la gráfica se observa el ajuste de los valores (A) mediante una regresión lineal con el fin de asegurar el comportamiento normal de los grupos de datos (Orellana, 2008). Se observan que los valores presentan aleatoriedad (B) y se comportan normalmente (C) sin embargo es importante mencionar que debido al número de muestras es muy pequeño se puede estar generando un valor atípico.

Gráfico 11: Distribución de normalidad para las concentraciones de cobre en el A2TC

Elaborado por: Los autores

Para el caso de cobre en el área A2TC se acepta la hipótesis **H₀**: que no existe diferencia significativa entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de los metales en las técnicas de bioestimulación y bioaumentación.

3.7.1.3 Prueba *T student* para el área A3CH

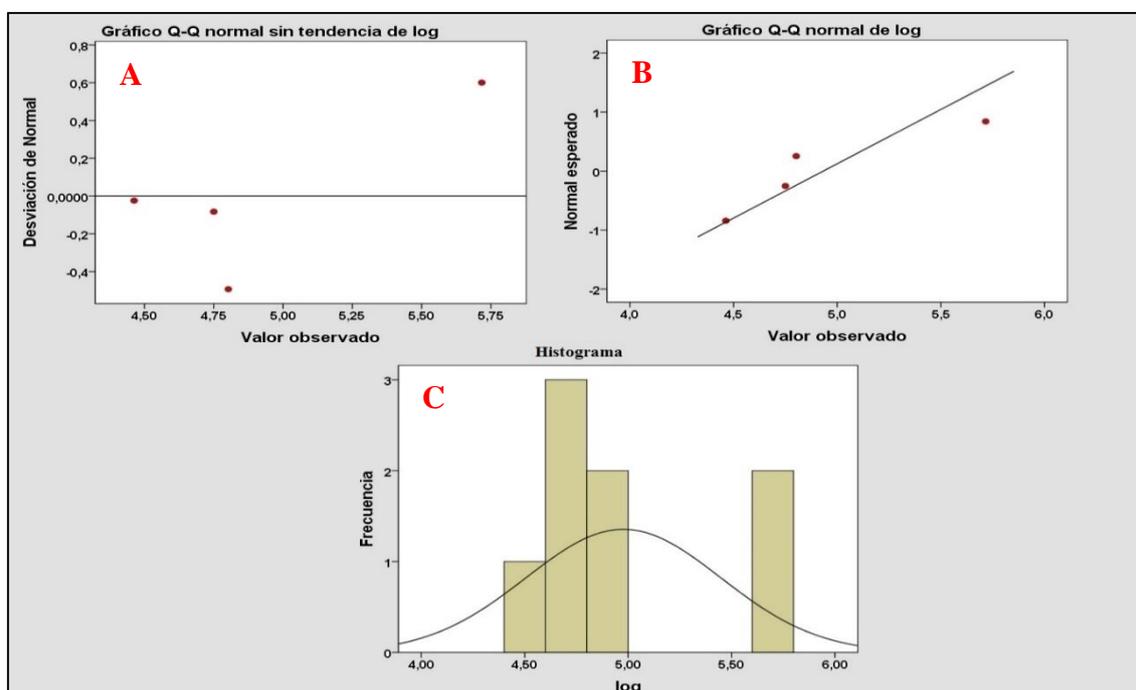
Se ingresaron los datos correspondientes al metal cobre en el software “SPSS statistics” obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 34: Prueba de muestras independientes para el A3CH con cobre

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES							
Concentraciones de Cobre	Prueba de Levene		Prueba T “igualdad de medias”				
	F	Sig.	Sig. Bilateral	Diferencia de error estándar	95% de confianza de la diferencia Inferior	de intervalo de Superior	
Se asumen varianzas iguales	,014	,909	,895	67,78228	-156,53226	175,18226	
No se asumen varianzas iguales	-----	-----	,895	67,78228	-156,72507	175,37507	

Nota: Dado que el estadístico de Levene es de 0,909 se asume que las varianzas son iguales. Por lo tanto el P-valor 0.895 es mayor al nivel de significancia (0.05) por lo que se infiere que no existe una diferencia entre los grupos de datos, aceptando la hipótesis nula.

Elaborado por: Los Autores



En la gráfica se observa el ajuste de los valores (A) mediante una regresión lineal con el fin de asegurar el comportamiento normal de los grupos de datos (Orellana, 2008). Se observan que los valores presentan aleatoriedad (B) y se comportan normalmente (C) sin embargo es importante mencionar que debido al número de muestras es muy pequeño se puede estar generando un valor atípico.

Gráfico 12: Distribución de normalidad para las concentraciones de cobre en el A3CH

Elaborado por: Los autores

Para el caso de cobre en el área A3CH se acepta la hipótesis **H₀: que no existe diferencia significativa entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de cobre en los cultivos de girasol y tabaco.**

3.7.1.4 Prueba *T student* para el área A4TM

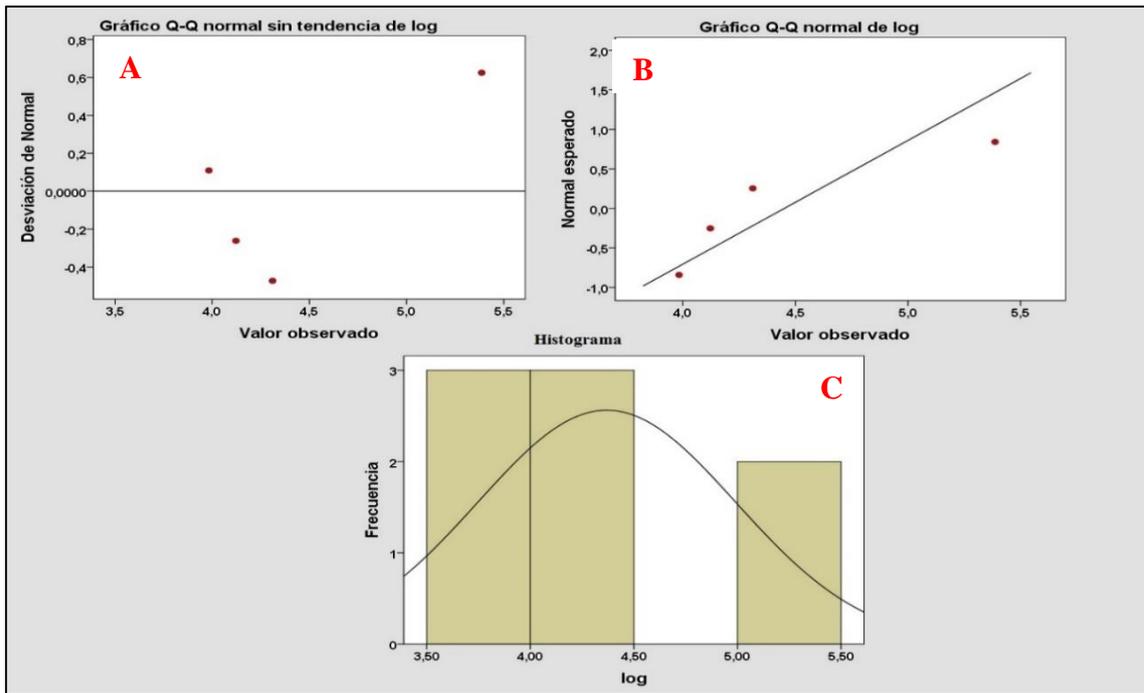
Se ingresaron los datos correspondientes al metal cobre en el software “SPSS statistics” obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 35: Prueba de muestras independientes para el A4TM con cobre

PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES						
Concentraciones de Cobre	Prueba de Levene		Prueba T “igualdad de medias”			
	F	Sig.	Sig. Bilateral	Diferencia de error estándar	95% de confianza de la diferencia	Intervalo de la diferencia Superior
Se asumen varianzas iguales	,003	,962	,828	54,45497	-145,57152	120,92152
No se asumen varianzas iguales	-----	-----	,828	54,45497	-145,59636	120,94636

Nota: Dado que el estadístico de Levene es de 0,962 se asume que las varianzas son iguales. Por lo tanto el P-valor 0.828 es mayor al nivel de significancia (0.05) por lo que se infiere que no existe una diferencia entre los grupos de datos, aceptando la hipótesis nula.

Fuente: Los autores



En la gráfica se observa el ajuste de los valores (A) mediante una regresión lineal con el fin de asegurar el comportamiento normal de los grupos de datos (Orellana, 2008). Se observan que los valores presentan aleatoriedad (B) y se comportan normalmente (C) sin embargo es importante mencionar que debido al número de muestras es muy pequeño se puede estar generando un valor atípico.

Gráfico 13: Distribución de normalidad para las concentraciones de cobre en el A4TM

Elaborado por: Los autores

Para el caso de cobre en el área A4TM se acepta la hipótesis **H₀: que no existe diferencia significativa entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final de cobre en los cultivos de girasol y tabaco.**

DISCUSION

En el ensayo de (Di Bella, 2016) “*Trichoderma harzianum* a new opportunity in bioremediation of copper polluted soils” se obtuvo una reducción de 450 mg/Kg de Cobre, mientras que en nuestro estudio *in situ* con la cepa *Trichoderma spp* se redujo a 212.66 mg/Kg que corresponde al 64% de su concentración de partida.

En el ensayo *in vitro* reportado por (Zhunio, 2016), la reducción de plomo con *Trichoderma spp* fueron del 72.22% y 56% y con *Penicillium spp* de 53.65% y 70.79%. Comparándose con la aplicación del estudio *in situ*, se evidenció una reducción de 80.69% con el consorcio *Trichoderma spp* y *Penicillium spp*.

En otro estudio realizado por (Das, Bhowal, & Datta, 2011), demuestra una eficiencia del tratamiento de bioestimulación en la reducción de cobre del 54%. Por lo tanto se afirma que la técnica es válida ya que en nuestro ensayo se obtuvo una tasa del 59.53% de reducción del metal. Por otra parte (Flores & Mendoza, 2017) en su investigación de bioestimulación con compost y ácido húmico se reporta un incremento del 38.06% de plomo contraponiéndose al estudio donde se empleó el fertilizante “10-30-10” con una disminución del 83% del metal.

Para el tratamiento de fitoextracción (Pérez, 2006) determinó una reducción de 10.74% de cobre utilizando el cultivo de *Nicotiana tabacum*. Por el contrario, en el estudio experimental se obtuvo un porcentaje de reducción del 73.44%. En cambio (Hernandez, Juarez, & Robledo, 2016) demuestra una reducción del 55% de cobre mediante el cultivo de *Helianthus annuus*. Al contrario, en el estudio *in situ* se evidencia una reducción del 69.04% del metal.

Según los criterios de remediación o restauración del suelo citados por el (TULSMA, 2017), el pH debe oscilar entre 6 a 8. En el estudio *in situ* el pH determinado para cada área cumple con los criterios de la normativa con los siguientes valores promedios, en el área A1G un pH 7,20, en el área A2TC un pH de 6,61, en el área A3CH un pH de 7,24 y finalmente en el área A4TM un pH de 7,60.

CONCLUSIONES

Las concentraciones iniciales de partida vs las concentraciones finales demuestran que la tendencia de descontaminación de los suelos es decreciente, por lo que se confirma la eficiencia de las técnicas utilizadas; independientemente de cuál de ellas tuvo mayor eficacia al reducir la carga contaminante.

Bajo las condiciones ambientales del lugar de estudio (pH, temperatura, tipo de suelo, pendiente), se pudo determinar la eficiencia de las técnicas de bioestimulación, bioaumentación y fitoextracción en la reducción de cobre y plomo, obteniendo los siguientes resultados: para el A1G se redujo 135,65mg/kg de cobre y 246,7mg/kg de plomo con bioestimulación y 137,05mg/kg de cobre y 225,1 mg/kg de plomo con bioaumentación, mientras que para el A2TC se redujo 177,96mg/kg de cobre y 343mg/kg de plomo con bioestimulación y 212,66mg/kg de cobre y 355mg/kg de plomo con bioaumentación. Por otra parte en fitoextracción, en el A3CH se removió 187,99mg/kg de cobre con el cultivo de *Helianthus Annuus* y 217,19mg/kg de cobre con *Nicotiana Tabacum*. Finalmente, en el área A4TM se redujo 155,46mg/kg de cobre con *Helianthus Annuus* y 164,76mg/kg de cobre con *Nicotiana Tabacum*. Constatando que para el área A1G la bioaumentación fue la mejor técnica en la reducción de cobre y la bioestimulación para plomo. Para el área A2TC la técnica de bioaumentación fue la más eficiente en la reducción de cobre y plomo. Por último, en la fitoextracción en las áreas A3CH y A4TM el cultivo que tuvo mayor eficiencia en la remoción de cobre fue *Nicotiana Tabacum*.

La carga microbiana del suelo es abundante, determinándose que la cepa nativa más predominante en el suelo del área A1G y A2TC pertenece al género *Rizhopus spp*, mismo que fue estimulado a base de NPK (10- 30- 10) a fin de proveerle los nutrientes necesarios para mejorar su actividad biológica. Se evidenció que en las áreas anteriormente

mencionadas, la reducción de cobre y plomo fue notable confirmando la característica biosorbente de la cepa.

Finalmente, mediante la aplicación de la prueba *T student* para muestras independientes se determinó que no existe diferencia entre los grupos de datos que hacen referencia a la concentración inicial y final, obteniéndose una eficiencia óptima de las técnicas empleadas en las distintas áreas de estudio.

BIBLIOGRAFIA

- Abraham Covarrubias, S., & Peña Cabriales, J. (2017). Contaminación Ambiental Por Metales Pesados En México: Problemática Y Estrategias De Fitorremediación. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(esp01), 7–21. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>
- Acuña, a J., Pucci, O. H., & Pucci, G. N. (2008). Caracterización de un proceso de biorremediación de hidrocarburos en deficiencia de nitrógeno en un suelo de Patagonia Argentina. *Ecosistemas - Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente - ISBN 1697-2473*, 17(2), 85–93. <https://doi.org/10.4067/S0365-28072001000400016>
- Adams, G. O., Fufeyin, P. T., Okoro, S. E., Ehinomen, I., & Biology, E. (2015). Bioremediation , Biostimulation and Bioaugmentation : A Review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3(1), 28–39. <https://doi.org/10.12691/ijebb-3-1-5>
- Adriano, D. C. (2001). *Trace Elements in Terrestrial Environments Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Volume I*. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5>
- AEFA. (2017). Aplicación al voleo – AEFA – Asociación Española de Fabricantes de Agronutrientes. Retrieved July 30, 2019, from <https://aefa-agronutrientes.org/glosario-de-terminos-utiles-en-agronutricion/aplicacion-al-voleo>
- Ahmad, I., Ansari, M. I., & Aqil, F. (2006). Biosorption of Ni, Cr and Cd by metal tolerant *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. using single and multi-metal solution. *Indian Journal of Experimental Biology*, 44(1), 73–76.
- Ali, H., Khan, E., Anwar Sajad, M., Lower, D., & Pakhtunkhwa, K. (2013). Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Chemosphere*, 91, 869–881. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.01.075>
- Alisi, C., Musella, R., Tasso, F., Ubaldi, C., Manzo, S., Cremisini, C., & Sprocati, A. R. (2009). Bioremediation of diesel oil in a co-contaminated soil by bioaugmentation with a microbial formula tailored with native strains selected for heavy metals resistance. *Science of The Total Environment*, 407(8), 3024–3032. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.01.011>
- Areco, M. del M. (2011). *Biosorción: un método alternativo para el tratamiento de la contaminación ambiental por metales pesados*. ResearchGate.
- Arevalo S., P. A. (2018). *DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE DEGRADACIÓN DE CIANURO PROVENIENTE DE LA INDUSTRIA MINERA DEL CANTÓN CUENCA CON Trichoderma spp*. UNIVERSIDAD POLITECNICA SALESIANA.
- Argumedo-Delira, R., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., & Peña-Cabriales, J. J. (2009). El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista Internacional Contaminación Ambiental*, 25(4), 257–269.
- Arrieta, O. M., Ramírez, O. M. A., Rivera, A. P. R., Marin, L. A., Rojano, B. A., Ruiz, O., & Gallo, S. A. C. (2012). *Gestión y ambiente*. *Gestión y Ambiente* (Vol. 15).

- Medellín: Universidad Nacional de Colombia. Retrieved from <https://revistas.unal.edu.co/index.php/gestion/article/view/30815>
- ASTDR, A. for T. S. and D. R. (2007). ToxFAQs™ sobre el plomo. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, (Vi), 1–2. Retrieved from https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts13.pdf
- Atlas, R. M. (1995). Bioremediation of petroleum pollutants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 35(1–3), 317–327. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00030-9](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00030-9)
- Baker, A. J. M. (1981). Accumulators and Excluders - Strategies in the Response of Plants to Heavy Metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3(1–4), 643–654. <https://doi.org/10.1080/01904168109362867>
- Baltz, R. H., Davies, J. E., & Demain, A. L. (Arnold L. . (n.d.). *Manual of industrial microbiology and biotechnology*.
- Batista García, R. A., & Sánchez Reyes, A. (2009). Fitorremediación de metales pesados y microorganismos. *Ama.Redciencia.Cu*, (16), 1–6.
- Bayón Sanz, S. (2015). Aplicación de la Fitorremediación a Suelos Contaminados por Metales Pesados. *Universidad Complutence*, 23.
- Bellido, G., González, S., & Meliá, J. (2010). *Prueba T para muestras independientes*. Valencia. Retrieved from https://www.uv.es/innomide/spss/SPSS/SPSS_0701b.pdf
- Beltrán-Pineda, M. E., & Marcela Gómez-Rodríguez, A. (2016). UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA BIORREMEDIACIÓN DE METALES PESADOS CADMIO (Cd), CROMO (Cr) Y MERCURIO (Hg) MECANISMOS BIOQUÍMICOS E INGENIERÍA GENÉTICA: UNA REVISIÓN BIORREMEDIATION OF HEAVY METAL CADMIUM (Cd), CHROME (Cr) AND MERCURY (Hg), BIOCHEMICAL MECHANISMS AND GENETIC ENGINEERING: A REVIEW. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
- Bondy, S. C., & Prasad, K. N. (1988). *Metal neurotoxicity*. CRC Press.
- Bonila Valencia, S. M. (2013). Estudio para tratamientos de biorremediación de suelos contaminados con plomo, utilizando el metodo de fitorremediación.
- Cañizares-Villanueva, R. O. (2000). Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42(3), 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.02.024>
- Castebianco, J. A. (2018). Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao. *La Granja*, 27(1), 21–35. <https://doi.org/10.17163/lgr.n27.2018.02>
- CELEC, E. (2017). *Actualizacion_Plan_De_Manejo_V*.
- CELEC EP. (2018). Corporación Eléctrica del Ecuador. Retrieved March 23, 2019, from <https://www.celec.gob.ec/hidropaute/#>
- Chaney, R. L., Li, Y.-M., Angle, J. S., Baker, A. J. M., Reeves, R. D., Brown, S. L., ... M., C. (2000). Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: Approaches and progress. In N Terry and G.S. Banuelos (Eds.) *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*. CRC Press,

Boca Raton, FL., (January), 131–160.
<https://doi.org/doi:10.1201/9781439822654.ch7>

- Chaney, R. L., Malik, M., Li, Y. M., Brown, S. L., Brewer, E. P., Angle, J. S., & Baker, A. J. M. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology*. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(97\)80004-3](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(97)80004-3)
- Chicharro, A., & Cala, V. (1998). Impacto ambiental por metales pesados en suelos y plantas del entorno de un depósito de chatarra procedente de automóviles de desguace, *34(c)*, 421–426.
- CODIGEM, B. G. . (1994). Geological and Metal Occurrence Maps of the Southern Cordillera Real and El Oro Metamorphic Belts Ecuador escala 1:500.000.
- Corzo, Ibis. Velásquez, M. (2014). El Plomo Y Sus Efectos. *Electrónica y Servicio: 2 Temas Fundamentales de TV*, *8(3)*, 141–148.
- Covarrubias, S. A., García Berumen, J. A., & Peña Cabriales, J. J. (2015). El papel de los microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. *Acta Universitaria*, *25*, 40–45. <https://doi.org/10.15174/au.2015.907>
- Coyago, E., & Bonilla, S. (2017). Absorción de plomo de suelos altamente contaminados en especies vegetativas usadas para consumo animal y humano. *La Granja*, *23(1)*. <https://doi.org/10.17163/lgr.n23.2016.04>
- Das, C., Bhowal, A., & Datta, S. (2011). Bioremediation of Copper-Contaminated Soil by Co-Application of Bioaugmentation and Biostimulation with Organic Nutrient. *Bioremediation Journal*, *15(2)*, 90–98. <https://doi.org/10.1080/10889868.2011.570283>
- Di Bella, V. (2016). Trichoderma harzianum a new opportunity in bioremediation of copper polluted soils. Retrieved July 3, 2019, from https://www.researchgate.net/publication/305268479_bioremediation_Trichoderma_harzianum_a_new_opportunity_in_bioremediation_of_copper_polluted_soils
- Díaz, J. (2018). Cultivo del tabaco - EcuRed. *Proyecto de Constitución de Cuba*, 1. Retrieved from https://www.ecured.cu/Cultivo_del_tabaco
- Díez, M., Simón, M., Martín, F., Dorronsoro, C., García, I., & Van Gestel, C. A. M. (2009). Ambient trace element background concentrations in soils and their use in risk assessment. *Science of The Total Environment*, *407(16)*, 4622–4632. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.012>
- Ecosistemas, R. (2007). Fitorremediación de suelos contaminados Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. *Ecosistemas*, *16(2)*, 1–3.
- Esau López-Jácome, L., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). *Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología*. Retrieved from www.medigraphic.org.mx
- Espinoza, G. (2009). concentraciones de metales Sunflower (Helianthus annuus L .) germination under several metal.
- Eugenia, V., Quintero, V., Jairo, J., Cobo, S., Catalina, S., Barahona, G., & Arenas, J. B.

- (2016). Evaluation of the biostimulation over the bioremediation of hydrocarbons in contaminated soils with tar in Soacha, Cundinamarca-Colombia. *Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos / Biodiversity and Ecosystem Services Acta Agron*, 65(4), 354–361. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n4.51013>
- FAO. (2015). El suelo es un recurso no renovable.Su conservación es esencial para la seguridad alimentaria y nuestro futuro sostenible. Retrieved July 27, 2019, from <http://www.fao.org/resources/infographics/infographics-details/es/c/278964/>
- FAO. (2016). *Alianza Mundial Por El Suelo*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i5126s.pdf>
- Ferré Huguet, N., Schuhmacher Ansuategui, M., Llobet, J. M., & Domingo, J. L. (2007). Metales pesados y salud: diseño de un software para evaluar los riesgos de la exposición ambiental a través del agua, suelos y aire. *Mapfre Seguridad, ISSN 0212-1050, Año N° 27, N° 108, 2007, Págs. 50-58, 27(108), 50–58*. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2508799>
- Flores, S., & Mendoza, J. (2017). *BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS*. Cuenca. Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27211/1/tesis.pdf>
- Food and Agriculture Organization. (2015). El suelo es un recurso no renovable. *Food and Agriculture Organization, 2*.
- Galan, E., & Baena, A. R. (2008). Contaminación de Suelos por metales pesados. *Sociedad Española de Mineralogía Review, 10*, 48–60.
- Galán, E., & Romero, A. (2008). Contaminación de Suelos por metales pesados. *Sociedad Española de Mineralogía Review, 10*, 48–60.
- Gallego, J. L. R., Loredó, J., Llamas, J. F., Vázquez, F., & Sánchez, J. (2001). Bioremediation of diesel-contaminated soils: Evaluation of potential in situ techniques by study of bacterial degradation. *Biodegradation, 12*(5), 325–335. <https://doi.org/10.1023/A:1014397732435>
- García, C., Moreno, J. L., Hernandez, M. T., & Polo, A. (2002). Metales pesados y sus implicaciones en la calidad de suelo. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10261/111812>
- García, F. X. (2012). Universidad de cuenca. *El Escorial, (2)*, 14,28.
- Gómez-Arnau, J. (1988). El cultivo del girasol, 31.
- González Rojas, E. H. (2011). Concepto y estrategias de biorremediación. *Inge@uan, 1*(1), 20–29.
- González Rojas, E. H., & Humberto, E. (2009). Técnicas de biorremediación en litorales afectados por el vertido de fuel pesado del Prestige. Retrieved from <http://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/14821>
- Hernandez, E., Juarez, Y., & Robledo, E. (2016). Acumulación de metales pesados en *Helianthus annuus* desarrollado en residuos de mina. Retrieved July 4, 2019, from https://www.researchgate.net/publication/311106616_Acumulacion_de_metales_pesados_en_Helianthus_annuus_desarrollado_en_residuos_de_mina
- Hernández, G. M., Álvarez, N. A., & Ríos, L. A. (2017). Biorremediación de

- organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática, 3–4. https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num1_art:564
- Hoseini, M., Jabbari, H., & Naddafi, K. (2012). Concentration and distribution characteristics of airborne fungi in indoor and outdoor air of Tehran subway stations. *Springer Science*, 8(5), 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10453-012-9285-8>
- Hurst, C. J. (Christon J. 1954-, Crawford, R. L., Garland, J. L., Lipson, D. A., Mills, A. L., & Stetzenbach, L. D. (2007). *Manual of environmental microbiology*. ASM Press.
- INIAP. (1998). INIAP -Estación Experimental Santa Catalina. *Variedades de Papa Cultivadas En El Ecuador*, 35.
- Jaramaillo, J. D., Sánchez, L. E. L., & Amaris, H. V. (2006). Estructura cristalina del cobre, propiedades microscópicas, mecánicas y de procesamiento. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 16(2), 96–103.
- Jimenez, G., & Párraga, C. (2011). Estudio de la movilización de metales pesados, 1–51. Retrieved from <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/11036/Tasm11de16.pdf?sequence=11>
- Kamunde, C. N., & Wood, C. M. (2004). Environmental chemistry, physiological homeostasis, toxicology and environmental regulation of copper, an essential element in freshwater fish. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 10(Campbell 1995), 1–20.
- Korda, A., Santas, P., Tenente, A., & Santas, R. (1997). Petroleum hydrocarbon bioremediation: Sampling and analytical techniques, in situ treatments and commercial microorganisms currently used. *Applied Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s002530051115>
- Krämer, U., Cotter-Howells, J. D., Charnock, J. M., Baker, A. J. M., & Smith, J. A. C. (1996). Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. *Nature*, 379(6566), 635–638. <https://doi.org/10.1038/379635a0>
- Laboratorios UTPL. (2019). Registro de Informe de Resultados.
- Lagos, G. (2012). El cobre y el ambiente. *COBRE: Salud, Medio Ambiente y Nuevas Tecnologías*, 58–70.
- Larriva Coronel, N. (2006). Síntesis de la importancia del Potasio en el suelo y plantas. *LA GRANJA: Revista de Ciencias de La Vida*, 2(Vol 2 No 1: (July-December 2003)). <https://doi.org/https://doi.org/10.17163/lgr.n2.2003.09>
- Londoño Franco, L. F., Londoño Muñoz, P. T., & Muñoz García, F. G. (2016). Los Riesgos De Los Metales Pesados En La Salud Humana Y Animal. *Bioteconología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14(2), 145. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(14\)145-153](https://doi.org/10.18684/bsaa(14)145-153)
- MAGAP. (2018). Ministerio de Agricultura y Ganadería. Retrieved March 29, 2019, from <https://www.agricultura.gob.ec/>
- Marrero-Coto, J., Amores-Sánchez, I., & Coto-Pérez, O. (2012). Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento ambiental. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 46(3), 52–71.

<https://doi.org/ISSN: 0138-6204>

- Mauricio, R., Beltran, S., De, G., De Biorremediación, M., La, P., & De, R. (2013). *GUÍA DE MÉTODOS DE BIORREMEDIACIÓN PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS*. Retrieved from [https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10607/TRABAJO_FINAL cd.pdf?sequence=1](https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10607/TRABAJO_FINAL_cd.pdf?sequence=1)
- Mauricio R., S. B. (2013). *GUÍA DE MÉTODOS DE BIORREMEDIACIÓN PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS*. UNIVERSIDAD LIBRE.
- Melguizo, S. s. . (2009). *FICHA TÉCNICA : Rev . : Octubre / 2009 Producto : POTATO DEXTROSE AGAR TUBO USO Potato Dextrose Agar es un medio para hongos y levaduras . PRINCIPIO Potato Destrose Agar es un medio de los Métodos Estándar utilizado en el aislamiento , cultivo y recuento*. Retrieved from [http://f-soria.es/Inform_soria/Difco Fichas tecnicas/TUBOS DIFCO/FT POTATO DEXTROSE AGAR.pdf](http://f-soria.es/Inform_soria/Difco_Fichas_tecnicas/TUBOS_DIFCO/FT_POTATO_DEXTROSE_AGAR.pdf)
- Mendoza, R. B., & Espinoza, A. (2017). *Guía Técnica para Muestreo de Suelos ASA AGUA Y SUELO PARA LA AGRICULTURA*. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/151729876.pdf>
- Morra, M. J. (1996). Bioremediation in soil: influence of soil properties on organic contaminants and bacteria. In R. L. Crawford & D. L. Crawford (Eds.), *Bioremediation* (pp. 35–60). Cambridge: Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511608414.004>
- Mueller, G. M. (Gregory M., Bills, G. F., & Foster, M. S. (2004). *Biodiversity of fungi : inventory and monitoring methods*. Elsevier Academic Press.
- Nelson, W. O., & Campbell, P. G. C. (1991). The effects of acidification on the geochemistry of Al, Cd, Pb and Hg in freshwater environments: A literature review. *Environmental Pollution*, 71(2–4), 91–130. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(91\)90030-Z](https://doi.org/10.1016/0269-7491(91)90030-Z)
- Noguera-Solís, C. E., & Huete-Pérez, J. A. (2017). Potencial de biodegradación de DDT y sus metabolitos en suelos agrícolas de Chinandega. *Encuentro*, (81), 48. <https://doi.org/10.5377/encuentro.v0i81.3627>
- Nordberg, G. (2012). Metales: Propiedades Químicas Y Toxicidad Productos Químicos. *Enciclopedia De Salud Y Seguridad En El Trabajometal, 4º(ES: PROPIEDADES QUÍMICAS Y TOXICIDAD)*, 1–76. Retrieved from <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo2/63.pdf>
- Núñez Chves, R. A. (2007). *TÉCNICAS IN VITRO PARA BIORREMEDIACIÓN DE CROMO Y PLOMO*. INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA ESCUELA DE BIOLOGIA . [https://doi.org/Instituto Tecnológico de Costa Rica](https://doi.org/Instituto_Tecnológico_de_Costa_Rica)
- Orellana, L. (2008). *Regresión Lineal Simple*. Retrieved from http://www.dm.uba.ar/materias/estadistica_Q/2011/1/clase_regresion_simple.pdf
- Ortiz, B., Sanz, J., Dorado, M., & Villar, S. (2007). Técnicas de recuperación de suelos contaminados. *Vt Miod Informe de Vigilancia Tecnológica*, 6, 109.

- Ortiz Paucay, P. (2016). Biodiversidad Fúngica En El Suelo Del Bosque Protector Aguarongo, Provincia Del Azuay - Ecuador. *Tesis Inedita*, 3. Retrieved from <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12814/1/UPS-CT006692.pdf>
- Park, D., Yun, Y. S., Jo, J. H., & Park, J. M. (2005). Mechanism of hexavalent chromium removal by dead fungal biomass of *Aspergillus niger*. *Water Research*, 39(4), 533–540. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.11.002>
- Pérez, J. (2006). El potencial acumulador de Cadmio y Plomo de la Nicotina tabacum L variedad “Criollo 98” cultivada en suelos y sustrato artificial en San Juan y Martínez, Pinar del Río, Cuba., 270.
- Pfenning, L. H., & Magalhães De Abreu, L. (2012). Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas. *Manual de Biología de Suelos Tropicales*, 243–280. Retrieved from <https://micrositios.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/667/cap8.pdf>
- Pineda, R. (2004). Presencia de hongos micorrízicos arbusculares y contribución de *Glomus intraradices* en la absorción y translocación de cinc y cobre en girasol (*Helianthus annuus* L.) crecido en un suelo contaminado con residuos de mina. *Tesis*, 149.
- Pozo, W., Sanfeliu, T., & Carrera, G. (2011). Metales pesados en humedales de arroz en la cuenca baja del río Guayas, 2(1), 17–30.
- Providenti, M. A., Lee, H., & Trevors, J. T. (1993). Selected factors limiting the microbial degradation of recalcitrant compounds. *Journal of Industrial Microbiology*, 12(6), 379–395. <https://doi.org/10.1007/BF01569669>
- Reilly, C. (2007). *Metal Contamination of Food : Its Significance for Food Quality and Human Health*. John Wiley & Sons.
- Rivera, M.; Sandoval, C.; Guzmán, J.; Avila, M. y Gutiérrez, F. 2003. (2003). Utilización de hongos resistentes a cromato para la eliminación de cromo hexavalente en tierra de desechos industriales. *Instituto de Investigaciones Científicas Universidad de Guanajuato. México*.
- Rivera Ortiz, P., Rivera Lárraga, J. E., Andrade Limas, E. D. C., Heyer Rodríguez, L., De La Garza Requena, F. R., & Castro Meza, B. I. (2018). Bioestimulación y biorremediación de recortes de perforación contaminados con hidrocarburos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(2), 249–262. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.02.06>
- Rodrigo Oviedo, A., Moína-Quimí, E., Naranjo-Morán, J., & Barcos-Arias, M. (2018). Contaminación por metales pesados en el sur del Ecuador asociada a la actividad minera. *Bionatura*, 2(4), 437–441. <https://doi.org/10.21931/rb/2017.02.04.5>
- Rodríguez, J., & Ruiz, J. (2016). Propuesta metodológica para el monitoreo, control y recuperación del suelo mediante bioaumentación de microorganismos para sitios de disposición final de residuos sólidos. *Universidad de La Salle*.
- Rodríguez O., E. P. (2018). **BIORREMEDIACIÓN DE LOS SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS PROVENIENTES DE LA ESTACIÓN DE SECOYA UTILIZANDO UN CONSORCIO BACTERIANO AEROBIO A ESCALA DE LABORATORIO**. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA.

<https://doi.org/UDCTFC;96T00495>

- Romero, L. K. P. (2009). Contaminación Por Metales Pesados. *Revista Científica Ciencia Médica*, 12(1), 45–46.
- SAE. (2012). *SERVICIO DE ACREDITACIÓN ECUATORIANO-SAE*. Retrieved from www.acreditacion.gob.ec
- SAE, . (2005). *Servicio de Acreditación Ecuatoriano*. Guayaquil. Retrieved from www.acreditacion.gob.ec
- Sanabria, Y. (2008). Analisis de muestreo de suelos. Retrieved from https://www.academia.edu/8817352/Analisis_de_muestreo_de_suelos?auto=download
- Sánchez, J. G., Marrugo, J. L., & Urango, I. D. (2017). Biosorción simultanea de plomo y cadmio en solución acuosa por biomasa de hongos penicillium sp. *Temas Agrarios*, 19(1), 63. <https://doi.org/10.21897/rta.v19i1.725>
- Sanzano, A. (1999). *El fósforo del suelo. Química del suelo*.
- Sanzano, A. (2016). El potasio del suelo. *Edafología*, 6–8.
- Schat, H. (2002). The role of phytochelatins in constitutive and adaptive heavy metal tolerances in hyperaccumulator and non-hyperaccumulator metallophytes. *Journal of Experimental Botany*, 53(379), 2381–2392. <https://doi.org/10.1093/jxb/erf107>
- Thomas, J. C., Davies, E. C., Malick, F. K., Endreszl, C., Williams, C. R., Abbas, M., ... Murray, K. S. (2003). Yeast Metallothionein in Transgenic Tobacco Promotes Copper Uptake from Contaminated Soils. *Biotechnology Progress*, 19(2), 273–280. <https://doi.org/10.1021/bp025623q>
- Torres-Moreno, F. (2018). Evaluación de Penicillium sp como degradador de celulosa en el proceso de compostaje de residuos orgánicos de origen vegetal en la localidad 20 de Bogotá. *Ingenieria Agronómica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá*.
- Tóth, G., Hermann, T., Da Silva, M. ., & Montanarella, L. (2016). Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *ELSEVIER*. Retrieved from https://ac.els-cdn.com/S0160412015301203/1-s2.0-S0160412015301203-main.pdf?_tid=32b9087b-782f-4341-86b7-3ecd404fb2cc&acdnat=1551886937_852fee3f15154e9e869290118a05096c
- TULSMA. (2017). *Norma de Calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados*. Retrieved from <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu112181.pdf>
- Ubillus Limo, J. (2003). *Estudio sobre la presencia de plomo en el medio ambiente de Talara. Estudio sobre la presencia de plomo en el medio ambiente de Talara en el año 2003*.
- US EPA, O. (1996). Metals. Retrieved from <https://www.epa.gov/caddisvol2/metals#listing>
- USEPA. (2014). United States Environmental Protection Agency | US EPA. Retrieved March 12, 2019, from <https://www.epa.gov/>
- Vangronsveld, J., Herzig, R., Weyens, N., Boulet, J., Adriaensen, K., Ruttens, A., ...

- Mench, M. (2009). Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: Lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(7), 765–794. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0213-6>
- Vázquez, S., Goldsbrough, P., & Carpena, R. O. (2006). Assessing the relative contributions of phytochelatins and the cell wall to cadmium resistance in white lupin. *Physiologia Plantarum*, 128(3), 487–495. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00764.x>
- Wolf, P. R., Brinker, R. C. (Russell C., & De la Cera Alonso, J. (1997). *Topografía Moderna*. Alfaomega.
- Yulieth, R., & Ines, V. (2016). Contaminación por metales implicados en alud ambiente y seguridad alimentaria. *Revista de Ingeniería*, 16(2), 66–77.
- Zamora Cardona, J. C., & Cristancho, F. (2013). La Humedad en las Propiedades Físicas del Suelo. *Departamento de Física, Universidad Nacional de Colombia*, 1.
- Zhunio, K. E. (2016). *Valoracion de Hongos Filamentosos nativos del bosque protector aguarongo en la biosorcion de metales pesados*. Retrieved from <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12906/1/UPS-CT006725.pdf>

ANEXOS

ANEXO 1: Glosario de términos

Metales pesados: son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano.

Bioestimulación: se conoce como la introducción de nutrientes u oxígeno a un medio contaminado para estimular la actividad biológica de los microorganismos autóctonos.

Bioaumentación: es la adición de microorganismos eficientes, con el fin de facilitar la eliminación de los contaminantes y así potenciar y optimizar la remediación.

Fitoextracción: es la captación de iones metálicos por las raíces de la planta y su acumulación en tallos y hojas.

Bioacumulación: es el proceso de acumulación de sustancias en organismos vivos de forma que estos alcanzan concentraciones más elevadas que las concentraciones en su medio.

Biosorción: está basada en la propiedad de ciertos tipos de biomasa, que enlazan o acumulan contaminantes por diferentes mecanismos.

Microorganismos nativos: son organismos microscópicos del mismo lugar, se desarrollan en su lugar de origen.

Microorganismos eficientes: son organismos microscópicos desarrollados en laboratorios.

Consortio microbiano: es una asociación natural de dos o más poblaciones microbianas, de diferentes especies, que actúan conjuntamente como una comunidad en un sistema complejo, donde todos se benefician de las actividades de los demás.

Plantas hiperacumuladoras: Una planta hiperacumuladora es una planta capaz de crecer en suelos con grandes concentraciones de metales pesados, concentraciones que resultan tóxicas incluso para especies cercanamente emparentadas a la misma.

In vitro: se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado o un laboratorio.

Biorremediación in situ: se intenta acelerar el proceso en el mismo ambiente modificando las condiciones ambientales o por inoculación microbiana.

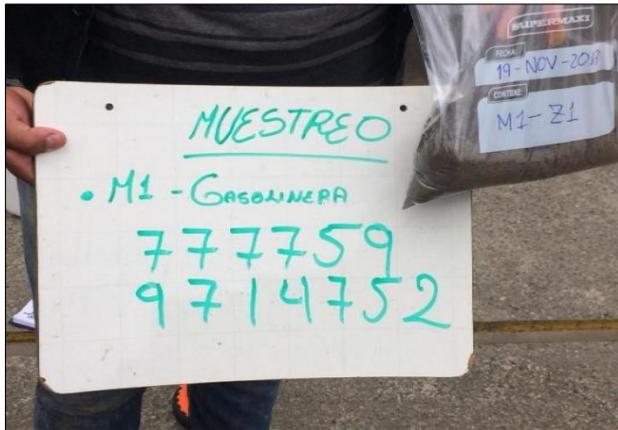
Biorremediación ex situ: consiste en extraer el contaminante y degradarlo en otro sitio en condiciones controladas de laboratorio.

ANEXO 2: Información de los investigadores del presente estudio

Nombres:	Eduardo Sebastián	Apellidos	Guartatanga Caivinagua
Instituto/ Facultad/	Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca Carrera Ingeniería		
Departamento:	Ambiental		
Dirección:	Juan Idrovo y Jaime Maldonado, Cuenca		
C.I.	0105955405		
Nacionalidad:	Ecuatoriano		
Fecha de Nacimiento:	20 de Julio de 1994		
Teléfono Casa:	072853615		
Celular:	0989308184		
E-mail:	sebas-20271@hotmail.com		

Nombres:	Klever Geovanny	Apellidos	Siguencia Urgiles
Instituto/ Facultad/	Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca Carrera Ingeniería		
Departamento:	Ambiental		
Dirección:	Calle S/N - San Camilo, Biblián		
C.I.	0302478664		
Nacionalidad:	Ecuatoriano		
Fecha de Nacimiento:	01 de Noviembre de 1995		
Teléfono Casa:	072230525		
Celular:	0992649381		
E-mail:	klever11@live.com		

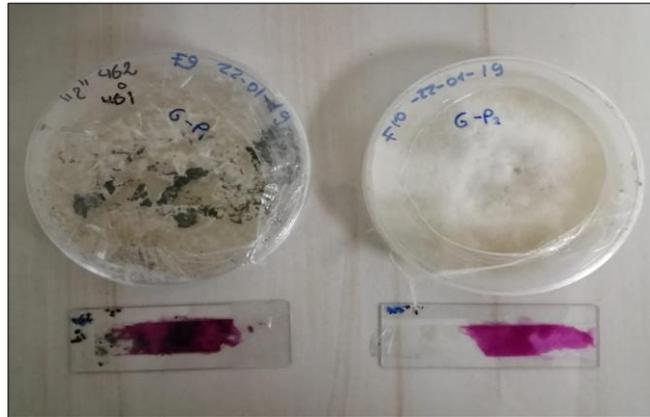
ANEXO 3: Toma y transporte de muestras



ANEXO 4: Tamizado y siembra de suelo en cajas Petri



ANEXO 5: Preparación de placas con muestras de hongos aislados para posteriormente ser analizados



ANEXO 6: Acondicionamiento del área AIG



ANEXO 7: Acondicionamiento del área A2TC



ANEXO 8: Acondicionamiento del área A3CH



ANEXO 9: Acondicionamiento del área A4TM



ANEXO 10: Aplicación de fertilizante en las áreas A2TC y A1G



ANEXO 11: Cultivo de cepas puras de Trichoderma spp y Penicilium spp en matraces Erlenmeyer



ANEXO 12: Aplicación de disoluciones en el área A1G y A2TC



ANEXO 13: Cultivo de Helianthus annuus y Nicotiana tabacum en áreas A3CH y A4TM



ANEXO 14: Medición de pH para las 4 áreas



ANEXO 15: Medición de temperatura para las 4 áreas



ANEXO 16: Resultados del análisis analítico y de las concentraciones iniciales de Pb y Cu en el área AIG



Grupo Químico Marcos
Laboratorio Ambiental Acreditado ISO 17 025

INFORME DE ENSAYOS
N° 76155-2



7615502192019000000 Ilima

SIGUENCIA URGILES KLEVER GEOVANNY
Representante Legal: SIGUENCIA URGILES KLEVER GEOVANNY
Dirección: Calle Lino Beñítez, Tel. 0992649381
Atención : Klever Sigüencia Urgiles

Guayaquil, 14 DE MARZO DEL 2019

DATOS DE MUESTREO

Fecha/Hora/Lugar de Muestreo:	2019/02/19 / 12:00 / Prov. Azuay - Campamento Guarumales
Fecha/Hora Recepción Muestras:	2019/02/20 / 10:01
Punto e Identificación de la Muestra:	Suelo Gasolinera
Matriz de la muestra:	Suelo
Muestreo Por/Muestreador/Tipo de Muestreo:	GRUPO QUIMICO MARCOS C. LTDA / CLIENTE / Simple
Duración de Muestreo:	---
Coordenadas Geográficas:	---
Norma Técnica de muestreo:	No Aplica

Muestreo Actividad Acreditada: Muestreo de Aguas Naturales y Residuales. Parámetros: DBO, DQO, Aceites y Grasas, TPH, Fenoles, ST y SST.

INORGANICOS NO METALES

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDADES	U K=2	MÉTODO	ANALIZADO POR
Nitrogeno total (1)	22,43	mg/Kg	---	4500 N C	2019/03/01 DF
Fosforo Total (1)	0,3	mg/kg	---	4500 P	2019/02/27 DF

METALES

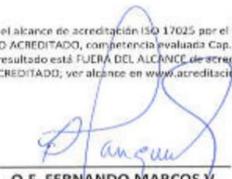
PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDADES	U K=2	MÉTODO	ANALIZADO POR
Potasio (1)	1122,8	mg/Kg	---	3120 B	2019/02/26 ER
Cobre (1)	224,447	mg/Kg	---	3120 B	2019/02/25 ER
Plomo (3)	289,7	mg/Kg	89,1	PEE-GQM-FQ-54	2019/02/25 ER

SIMBOLOGÍA:
 --- No. Aplica
 <LD Menor al Límite Detectable
 N.E. No Efectuado

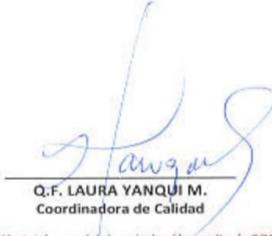
U K=2 Incertidumbre
 E.P.A. Environmental Protection Agency
 S.M. Standard Methods

L.M.P. Límite Máximo Permisible
 P.E.L. Procedimiento específico de Ensayo

NOMENCLATURA:
 [1] Parámetro NO INCLUIDO en el alcance de acreditación ISO 17025 por el SAL.
 [2] Parámetro subcontratado NO ACREDITADO, competencia evaluada Cap. 5 Manual de Calidad de GQM
 [3] Parámetro acreditado cuyo resultado está FUERA DEL ALCANCE de acreditación.
 [4] Parámetro subcontratado ACREDITADO, ver alcance en www.acreditacion.gob.ec.



Q.F. FERNANDO MARCOS V.
Director Técnico



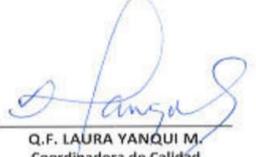
Q.F. LAURA YANQUI M.
Coordinadora de Calidad

IMPORTANTE:
 Los resultados de este informe de ensayo sólo son aplicables a las muestras analizadas; PROHIBIDA su reproducción total o parcial sin autorización escrita de GQM.

Parque California 2 Local D-41 Km. 11,5 vía a Daule
 042-103390(2) / 042-103825(35) / 0998-286653
www.grupoquimicomarcos.com
 Guayaquil - Ecuador

MC2201-14 Página 3 de 8

ANEXO 17: Resultados del análisis analítico y de las concentraciones iniciales de Pb y Cu en el área A2TC

 <p>Laboratorio Ambiental Acreditado ISO 17 025</p>	<p>INFORME DE ENSAYOS N° 76155-1</p>  <p>7615502192019000000 Ilima</p>					
<p>SIGUENCIA URGILES KLEVER GEOVANNY Representante Legal: SIGUENCIA URGILES KLEVER GEOVANNY Dirección: Calle Lino Beñitez, Tel. 0992649381 Atención : Klever Sigüencia Urgiles</p>						
<p>Guayaquil, 14 DE MARZO DEL 2019</p>						
<p>DATOS DE MUESTREO</p>						
Fecha/Hora/Lugar de Muestreo:	2019/02/19 / 14:40 / Prov. Azuay - Campamento Guarumales					
Fecha/Hora Recepción Muestras:	2019/02/20 / 10:01					
Punto e identificación de la Muestra:	Suelo Carpintería					
Matriz de la muestra:	Suelo					
Muestreado Por/Muestreador/Tipo de Muestreo:	GRUPO QUIMICO MARCOS C. LTDA / CLIENTE / Simple					
Duración de Muestreo:	---					
Coordenadas Geográficas:	---					
Norma Técnica de muestreo:	No Aplica					
<p>Muestreo Actividad Acreditada: Muestreo de Aguas Naturales y Residuales. Parámetros: DBO, DQO, Aceites y Grasas, TPH, Fenoles, ST y SST.</p>						
<p>INORGANICOS NO METALES</p>						
	PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDADES	U K=2	MÉTODO	ANALIZADO POR
	Nitrogeno total (1)	37,63	mg/Kg	---	4500 N C	2019/03/01 DF
	Fosforo Total (1)	0,4	mg/kg	---	4500 P	2019/02/27 DF
<p>METALES</p>						
	PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDADES	U K=2	MÉTODO	ANALIZADO POR
	Potasio (1)	1788,0	mg/Kg	---	3120 B	2019/02/26 ER
	Cobre (1)	298,958	mg/Kg	---	3120 B	2019/02/25 ER
	Plomo (3)	412	mg/Kg	126,8	PEE-GQM-FQ-54	2019/02/25 ER
<p>SIMBOLOGÍA: --- No Aplica <L Menor al Límite Detectable N.E. No Efectuado U K=2 Incertidumbre E.P.A. Environmental Protection Agency S.M. Standard Methods L.M.P. Límite Máximo Permissible P.E.E. Procedimiento específico de Ensayo</p>						
<p>NOMENCLATURA: (1) Parámetro NO INCLUIDO en el alcance de acreditación ISO 17025 por el SAC. (2) Parámetro subcontratado NO ACREDITADO, competencia evaluada Cap. 5 Manual de Calidad de GQM (3) Parámetro acreditado cuyo resultado está FUERA DEL ALCANCE de acreditación. (4) Parámetro subcontratado ACREDITADO; ver alcance en www.acreditacion.gub.ec</p>						
 Q.F. FERNANDO MARCOS V. Director Técnico			 Q.F. LAURA YANQUI M. Coordinadora de Calidad			
<p>IMPORTANTE: Los resultados de este informe de ensayo sólo son aplicables a las muestras analizadas; PROHIBIDA su reproducción total o parcial sin autorización escrita de GQM.</p>						
<p>Parque California 2 Local D-41 Km. 11,5 vía a Daule 042-103390(2) / 042-103825(35) / 0998-286653 www.grupoquimicomarcos.com Guayaquil - Ecuador</p>						
MC2201-14	Página 1 de 8					

ANEXO 18: Resultados de las concentraciones iniciales de Cu en el área A3CH



Grupo
Químico
Marcos

Laboratorio Ambiental Acreditado ISO 17 025

INFORME DE ENSAYOS
N° 76155-3



7615502192019000000 Ilima

SIGUENCIA URGILES KLEVER GEOVANNY
Representante Legal: SIGUENCIA URGILES KLEVER GEOVANNY
Dirección: Calle Lino Beñítez, Tel. 0992649381
Atención : Klever Siguenca Urgiles

Guayaquil, 14 DE MARZO DEL 2019

DATOS DE MUESTREO

Fecha/Hora/Lugar de Muestreo:	2019/02/19 / 14:30 / Prov. Azuay - Campamento Guarumales
Fecha/Hora Recepción Muestras:	2019/02/20 / 10:01
Punto e Identificación de la Muestra:	Suelo Chatarrera
Matriz de la muestra:	Suelo
Muestreo Por/Muestreador/Tipo de Muestreo:	GRUPO QUIMICO MARCOS C. LTDA / CLIENTE / Simple
Duración de Muestreo:	---
Coordenadas Geográficas:	---
Norma Técnica de muestreo:	No Aplica
Muestreo Actividad Acreditada:	Muestreo de Aguas Naturales y Residuales. Parámetros: DBO, DQO, Aceites y Grasas, TPH, Fenoles, ST y SST.

METALES

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDADES	U K=2	MÉTODO	ANALIZADO POR
Cobre [1]	303,893	mg/Kg	---	3120 B	2019/02/25 ER

SIMBOLOGÍA:
--- No. Aplica
<LD Menor al Límite Detectable
N.E. No Efectuada

U K=2 Incertidumbre
E.P.A. Environmental Protection Agency
S.M. Standard Methods

L.M.P. Límite Máximo Permisible
P.E.E. Procedimiento específico de Ensayo



Q.F. FERNANDO MARCOS V.
Director Técnico



Q.F. LAURA YANQUI M.
Coordinadora de Calidad

IMPORTANTE:
Los resultados de este informe de ensayo sólo son aplicables a las muestras analizadas; PROHIBIDA su reproducción total o parcial sin autorización escrita de GQM.

Parque California 2 Local D-41 Km. 11,5 vía a Daule
042-103390(2) / 042-103825(35) / 0998-286653
www.grupoquimicomarcos.com
Guayaquil - Ecuador

MC2201-14

Página 5 de 8

ANEXO 19: Resultados de las concentraciones iniciales de Cu en el área A4TM



INFORME DE ENSAYOS

N° 76155-4



7615502192019000000 Ilima

SIGUENCIA URGILES KLEVER GEOVANNY
 Representante Legal: SIGUENCIA URGILES KLEVER GEOVANNY
 Dirección: Calle Lino Befítez, Tel. 0992649381
 Atención : Klever Siguenca Urgiles

Guayaquil, 14 DE MARZO DEL 2019

DATOS DE MUESTREO

Fecha/Hora/Lugar de Muestreo:	2019/02/19 / 15:00 / Prov. Azuay - Campamento Guarumales
Fecha/Hora Recepción Muestras:	2019/02/20 / 10:01
Punto e identificación de la Muestra:	Suelo Mecánica Automotriz
Matriz de la muestra:	Suelo
Muestreo Por/Muestreador/Tipo de Muestreo:	GRUPO QUIMICO MARCOS C. LTDA / Cliente / Simple
Duración de Muestreo:	---
Coordenadas Geográficas:	---
Norma Técnica de muestreo:	No Aplica
Muestreo Actividad Acreditada:	Muestreo de Aguas Naturales y Residuales. Parámetros: DBO, DQO, Aceites y Grasas, TPH, Fenoles, ST y SST.

METALES

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDADES	U K=2	MÉTODO	ANALIZADO POR
Cobre [1]	203,357	mg/Kg	---	3120 B	2019/02/25 ER

SIMBOLOGÍA:

---- No. Aplica
 <LD Menor al Limite Detectable
 N.E. No Efectuado

U K=2 Incertidumbre
 E.P.A. Environmental Protection Agency
 S.M. Standard Methods

L.M.P. Limite Máximo Permisible
 P.E.E. Procedimiento específico de Ensayo

NOMENCLATURA:

- {1} Parámetro NO INCLUIDO en el alcance de acreditación ISO 17025 por el SAC.
- {2} Parámetro subcontratado NO ACREDITADO, como se evalúa Cap. 5 Manual de Calidad de GQM
- {3} Parámetro acreditado cuyo resultado está FUERA DEL ALCANCE de acreditación.
- {4} Parámetro subcontratado ACREDITADO; ver alcance en www.acreditacion.gob.ec

Q.F. FERNANDO MARCOS V.
 Director Técnico

Q.F. LAURA YANQUI M.
 Coordinadora de Calidad

IMPORTANTE:

Los resultados de este informe de ensayo solo son aplicables a las muestras analizadas; PROHIBIDA su reproducción total o parcial sin autorización escrita de GQM.

Parque California 2 Local D-41 Km. 11,5 via a Daule
 042-103390(2) / 042-103825(35) / 0998-286653
 www.grupoquimicomarcos.com
 Guayaquil - Ecuador

ANEXO 20: Resultados de las concentraciones de Pb y Cu realizados en el monitoreo en las diferentes áreas de estudio

		UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA REGISTRO DE INFORME DE RESULTADOS LABORATORIOS UTPL				
A. DATOS DEL INFORME DE RESULTADOS						
FECHA DEL INFORME:		28/06/2019			INFORME Nro.: 219V003	
B. INFORMACIÓN DEL CLIENTE						
NOMBRE:		Klever Geovanny Siguencia Urgiles				
DIRECCIÓN:		Cuenca, Calle Lino Benítez y Av. El salado				
TELÉFONO:		0992649381		E-MAIL: klever11@live.com		
C. DATOS GENERALES DE LAS MUESTRAS						
DESCRIPCIÓN:		Lectura de cobre y plomo en muestras de suelo				
FECHA DE RECEPCIÓN:		29/04/2019				
D. RESULTADOS DE ANÁLISIS DE MUESTRAS EN LABORATORIO						
CÓDIGO DE MUESTRA	DETERMINACIÓN	FECHA DE ENSAYO		MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO
		INICIO	FIN			
COBRE						
T_carpintería (eficientes)	Cobre	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	198.3
T_carpintería (nativos)	Cobre	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	165.0
T_mecánico (girasol)	Cobre	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	59.4
T_mecánico (tabaco)	Cobre	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	74.5
Chatarrera (tabaco)	Cobre	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	121.8
Chatarrera (Girasol)	Cobre	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	122.9
Gasolinera (eficientes)	Cobre	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	122.7
Gasolinera (nativos)	Cobre	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	107.0
T_carpintería (eficientes)	Cobre	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	152.3
T_carpintería (nativos)	Cobre	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	141.7
T_mecánico (girasol)	Cobre	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	48.4
T_mecánico (tabaco)	Cobre	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	61.7
Chatarrera (tabaco)	Cobre	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	115.6
Chatarrera (Girasol)	Cobre	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	120.4
Gasolinera (eficientes)	Cobre	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	116.1
Gasolinera (nativos)	Cobre	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	100.8
T_carpintería (eficientes)	Cobre	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	119.6
T_carpintería (nativos)	Cobre	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	121.0
T_mecánico (girasol)	Cobre	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	47.9
T_mecánico (tabaco)	Cobre	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	53.7
Chatarrera (tabaco)	Cobre	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	86.7
Chatarrera (Girasol)	Cobre	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	117.0
Gasolinera (eficientes)	Cobre	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	103.1
Gasolinera (nativos)	Cobre	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Cu-ABS-019	mg/Kg	88.8
PLOMO						
T_carpintería (eficientes)	Plomo	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	85.2
T_carpintería (nativos)	Plomo	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	74.6
Gasolinera (eficientes)	Plomo	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	66.2
Gasolinera (nativos)	Plomo	29/04/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	74.6
T_carpintería (eficientes)	Plomo	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	77.6
T_carpintería (nativos)	Plomo	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	71.8
Gasolinera (eficientes)	Plomo	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	66.0
Gasolinera (nativos)	Plomo	31/05/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	59.4
T_carpintería (eficientes)	Plomo	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	67.6
T_carpintería (nativos)	Plomo	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	69
Gasolinera (eficientes)	Plomo	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	64.6
Gasolinera (nativos)	Plomo	26/06/2019	26/6/2019	LUTPL-Pb-ABS-022	mg/Kg	51.4
E. OBSERVACIONES						
El informe de ensayo no se puede reproducir parcialmente, excepto en su totalidad con la aprobación escrita del laboratorio. Los resultados representan exclusivamente la muestra (s) analizada (s).						
F. GLOSARIO						
mg/Kg: miligramos de Pb o Cu por Kg de suelo seco						


 Líder Técnico
 Mgr. Silvio David Aguilar Ramirez




 Técnico Analista
 Mgr. James William Calva Torres

-----FIN DEL INFORME-----

ANEXO 21: Aplicación in situ de las técnicas biológicas de recuperación de suelo en el área AIG

SIN INTERVENCION

APLICACION

CON INTERVENCION

BIOESTIMULACION



BIOAUMENTACION



ANEXO 22: Aplicación in situ de las técnicas biológicas de recuperación de suelo en el área A2TC

SIN INTERVENCION

APLICACION

CON INTERVENCION

BIOESTIMULACION



BIOAUMENTACION



ANEXO 23: Aplicación in situ de las técnicas biológicas de recuperación de suelo en el área A3CH

SIN INTERVENCION

APLICACION

CON INTERVENCION

FITOEXTRACCION con **Tabaco**



FITOEXTRACCION con **Girasol**



ANEXO 24: Aplicación in situ de las técnicas biológicas de recuperación de suelo en el área A4TM

SIN INTERVENCION

APLICACION

CON INTERVENCION

FITOEXTRACCION con **Tabaco**



FITOEXTRACCION con **Girasol**



