



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS

PROYECTO TERMINAL

EVALUACIÓN DE *Trichoderma harzianum* y
Pachyphytum bracteosum Klotzsch & Otto EN LA
BIORREMEDIACIÓN ASISTIDA DE SUELOS
CONTAMINADOS CON GASOLINA ADULTERADA.

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencia en Tecnología Agrícola y Forestal
Sustentable

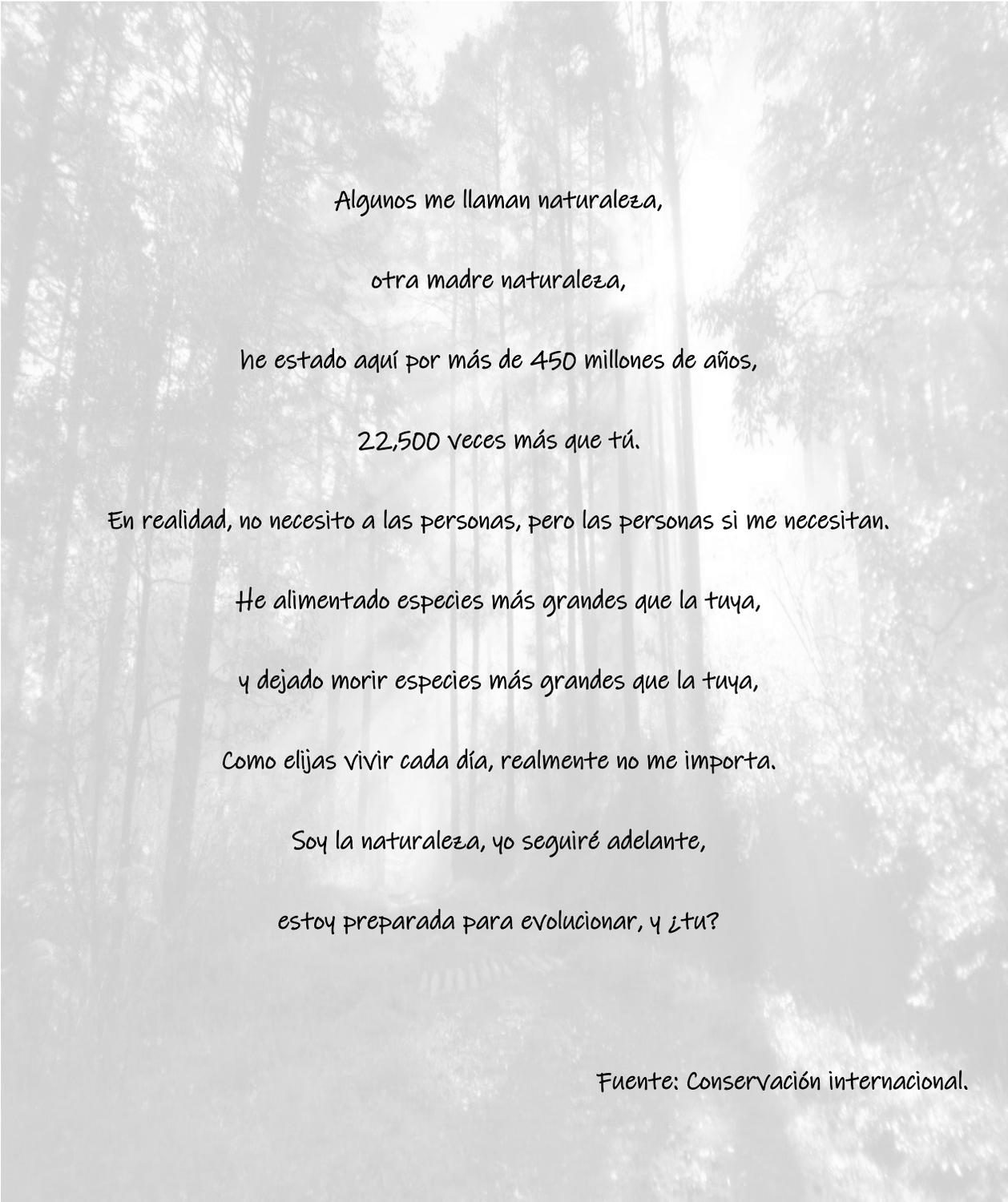
PRESENTA

Ing. Ana Laura Hernández Méndez

DIRECTOR

Dr. Juan Capulín Grande

Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México, noviembre 2024.



Algunos me llaman naturaleza,
otra madre naturaleza,
he estado aquí por más de 450 millones de años,
22,500 veces más que tú.

En realidad, no necesito a las personas, pero las personas si me necesitan.

He alimentado especies más grandes que la tuya,
y dejado morir especies más grandes que la tuya,
Como elijas vivir cada día, realmente no me importa.

Soy la naturaleza, yo seguiré adelante,
estoy preparada para evolucionar, y ¿tú?

Fuente: Conservación internacional.

AGRADECIMIENTOS

A mi comité asesor por apoyarme y tener paciencia, gracias; Dr. Juan Capulín Grande, Dr. José Justo Mateo Sánchez, Dra. Margarita Islas Pelcastre, Dra. Ma. Isabel Reyes Santamaria, Dr. Alfonso Suárez Islas y Dra. Juana Lira Pérez.

También, agradezco la disposición del Dr. Salvador Pérez y el Dr. Claudio Delgadillo Moya por compartir su experiencia y conocimientos, en colaboración de esta investigación, permitiéndome analizar las muestras en el infrarrojo IR y corroborando la identificación de los musgos.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ABREVIATURAS Y GLOSARIO.....	VI
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. ANTECEDENTES.....	6
2.1 Xenobióticos orgánicos	6
2.2 Generalidades de los xenobióticos orgánicos	7
2.3 Biorremediación asistida o dirigida	8
2.4 Descontaminación con el hongo <i>Trichoderma harzianum</i>	9
2.5 Descontaminación con plantas suculentas <i>Pachyphytum bracteosum</i>	10
2.6 ANÁLISIS CON ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA (IR).....	12
3. JUSTIFICACIÓN.....	13
4. OBJETIVOS	14
4.1 Objetivo general.....	14
4.2 Objetivos específicos	14
5. HIPÓTESIS	15
5.1 Hipótesis alternativa	15

6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
6.1 Área de estudio	16
6.2 Desarrollo del experimento.....	18
6.3 Biorremediación asistida.....	18
6.4 Análisis del suelo	18
6.5 Parámetros tóxicos	19
6.6 Análisis con infrarrojo IR.....	19
6.7 Variables respuestas	20
6.8 Diseño experimental.....	20
7. RESULTADOS.....	23
8.1 Parámetro toxico	24
8.2 Análisis con Infrarrojo IR.....	25
8.3 Variables respuestas	31
9. DISCUSIÓN.....	35
10. CONCLUSIÓN	39
11. LITERATURA	40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3. Límites máximos permisibles para fracciones de hidrocarburos en suelos.	19
Cuadro 1. Concentración de esporas empleadas en la inoculación de <i>Trichoderma Harzianum</i>	21
Cuadro 2. Cantidad de nutrientes y oxígeno incorporado al suelo en el tratamiento tres.....	21
Cuadro 4. Resultados de propiedades fisicoquímicas del suelo, interpretados como línea base.....	23
Cuadro 5. Temperatura ambiente en el invernadero.....	24
Cuadro 6. Media de las variables a los 30, 60, 90 y 120 días.	31
Cuadro 7. ANOVA de biomasa con el método de Tukey.....	32
Cuadro 9. ANOVA de altura de planta con el método de Tukey.	33
Cuadro 10. ANOVA de longitud de raíz con el método de Tukey.	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de problema de la investigación sobre la contaminación del suelo.	3
Figura 2. Hongo <i>Trichoderma harzianum</i> activo en el medio de cultivo.....	10
Figura 3. <i>Pachyphytum bracteosum</i> planta suculenta de la familia <i>Crassulaceae</i> , endémica del estado de Hidalgo.	11
Figura 4. Mapa de Ubicación de la ranchería “El aserradero” ubicado en el municipio de Cuautepec de Hinojosa, en el estado de Hidalgo.....	17
Figura 5. Plantas de <i>Pachyphytum bracteosum</i> empleadas en el tratamiento 2.	21
Figura 6. Infrarrojo IR que compara la gasolina adulterada con el suelo procedente de una toma clausurada, como línea base en la investigación.	26
Figura 7. Análisis de los tratamientos a los 30 días en comparación con el control negativo.....	27
Figura 8. Análisis de los tratamientos a los 60 días en comparación con el control negativo.....	28
Figura 9. Análisis de los tratamientos a los 90 días en comparación con el control negativo.....	29
Figura 10. Infrarrojo IR de los tratamientos a los 120 días en comparación con el control negativo.....	30
Figura 11. Especies nuevas que germinaron en los tratamientos de biorremediación asistida.....	34

Figura 12. Tamaño de <i>Pachyphytum bracteosum</i> a los 180 días de tratamiento....	37
Figura 13. Briofitas identificadas que germinaron en los tratamientos de biorremediación asistida.....	38
Figura 14. Resultados del análisis de suelo realizados en CHAPINGO.....	50

ABREVIATURAS Y GLOSARIO

BTEX: B, benceno; T, tolueno; E, etilbenceno; X, xilenos (suma de isómeros orto-, meta y para-) (NOM, 2012).

Contaminación: La presencia en el ambiente de uno o más contaminantes o de cualquier combinación de ellos que cause desequilibrio ecológico (LEGGEPA, 1988).

Contaminante: Toda materia o energía en cualquiera de sus estados físicos y formas, que al incorporarse o actuar en la atmósfera, agua, suelo, flora, fauna o elemento natural, altere o modifique su composición y condición natural (LEGEEPA, 1988).

Contingencia ambiental: Situación de riesgo, derivada de actividades humanas o fenómenos naturales, que puede poner en peligro la integridad de uno o varios ecosistemas (LEGEEPA, 1988).

Ecosistema: La unidad funcional básica de interacción de los organismos vivos entre sí y de éstos con el ambiente, en un espacio y tiempo determinados (LEGEEPA, 1988).

Emergencia ecológica: Situación derivada de actividades humanas o fenómenos naturales que, al afectar severamente a sus elementos, pone en peligro a uno o varios ecosistemas (LEGEEPA, 1988).

Emisión: Liberación al ambiente de toda sustancia, en cualquiera de sus estados físicos, o cualquier tipo de energía, proveniente de una fuente (LEGEEPA, 1988).

HAP: Hidrocarburos aromáticos policíclicos o polinucleares (NOM, 2012).

Hidrocarburos fracción ligera: Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contengan entre cinco y diez átomos de carbono (C5 a C10) (NOM,2012).

Hidrocarburos: Compuestos químicos orgánicos, constituidos principalmente por átomos de carbono e hidrógeno (NOM, 2012).

Impacto ambiental: Modificación del ambiente ocasionada por la acción del hombre o de la naturaleza (LEGEEPA, 1988).

LMP: Límites Máximos Permisibles (NOM, 2012).

Residuos peligrosos: Son aquellos que posean alguna de las características de corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad, inflamabilidad o que contengan agentes infecciosos que le confieran peligrosidad, así como envases, recipientes, embalajes y suelos que hayan sido contaminados cuando se transfieran a otro sitio y, por tanto, representan un peligro al equilibrio ecológico o el ambiente (LEGEEPA, 1988).

Restauración: Conjunto de actividades tendientes a la recuperación y restablecimiento de las condiciones que propician la evolución y continuidad de los procesos naturales (LEGEEPA, 1988).

Suelo contaminado con hidrocarburos: Aquel en el cual se encuentran presentes los hidrocarburos, en una concentración mayor a los límites máximos permisibles (NOM, 2012).

Suelo: Material no consolidado compuesto por partículas inorgánicas, materia orgánica, agua, aire y organismos, que comprende desde la capa superior de la superficie terrestre hasta diferentes niveles de profundidad (NOM, 2012).

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la eficiencia de la biorremediación asistida en la descontaminación del suelo contaminado por gasolina adulterada, esta investigación se realizó con un experimento ex situ, con cuatro tratamientos y un control negativo, generando las siguientes condiciones: trasplante de pachifito (*Pachyphytum bracteosum*), inoculación del hongo *Trichoderma harzianum*, adición de nutrientes y oxígeno, y la mezcla de todas las condiciones antes mencionadas, en un suelo contaminado con gasolina adulterada con 195,000,000 ppm en macetas de dos kilos. Su análisis se realizó con muestreos destructivos a los 30, 60, 90 y 120 días, para identificar la presencia, ausencia o transformación de los xenobióticos orgánicos presentes en la estructura molecular de la gasolina adulterada en el suelo contaminado empleando un infrarrojo IR, así como el % de supervivencia de las plantas, su biomasa, su altura y longitud de raíz. Confirmando que a los 90 días de tratamiento, el bioensayo que integra todas las condiciones, transformó un alqueno en alcohol, lo que permite su posible solubilización en un medio ácido, además de aumentar la biomasa de *Pachyphytum bracteosum*, revelando que es una especie tolerante a los xenobióticos orgánicos de la gasolina adulterada.

Palabras clave: *biorremediación asistida, suculentas, aromáticos, franco-arcillosa, espectroscopía infrarroja.*

1. INTRODUCCIÓN

La extracción de petróleo y el transporte de sus derivados, se convirtió en un tema relevante en México cuando se sustituyó el carbón por el crudo, tomando valor para el gobierno e invirtiendo en infraestructura para obtener una producción redituable, pero considerando que la mayoría del producto se produce en zonas marítimas, se tenía un problema para distribuirlo por el país y exportarlo, el cual se resolvió, transportándolo por oleoductos, pero, en las últimas décadas la infraestructura se ha visto afectada por desperfectos antropogénicos como robo a través de tomas clandestinas (Álvarez, 2006), provocando emergencias y contingencias ambientales, que representan un peligro, atentando contra el medio ambiente, formando impactos negativos en: ecosistemas enteros, zonas urbanas, la economía y la sociedad (Flores, et al., 2004).

La extracción de combustible fue una incidencia a nivel nacional y los estados con mayor número de tomas clandestinas fueron: Puebla, Guanajuato, Jalisco, Veracruz, Estado de México, Tamaulipas e Hidalgo (Chavarría, 2019). En el estado de Hidalgo, uno de los municipios con agravios antropogénicos es el municipio de Cuautepec de Hinojosa , que en un periodo de cinco meses reportó 55 incidencias de robo de hidrocarburo (Administración de Cuautepec de Hinojosa, 2020). Al respecto, hay estudios de suelo realizados en la emergencia ambiental del 2019, por la Procuraduría Federal de Protección al Ambiente, que clasificó al contaminante como un hidrocarburo de fracción ligera (C₅ a C₁₀) e hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) (PROFEPA, 2019).

Sin embargo, la atención que se da en estas incidencias tiene como objetivo asegurar el bienestar del personal por ser sustancias volátiles e inflamables con base a la clasificación CRETIB, por lo que se tiene un área de oportunidad para implementar acciones que minimicen y limiten la dispersión del contaminante. La remediación de las zonas afectadas en las emergencias ambientales debería ser prioridad para la salud pública, debido a los potenciales impactos negativos de los xenobióticos que lo integran, ya que se distinguen por ser cancerígenos, e incluso,

mutagénicos, así como su influencia dañina en los organismos del suelo y las plantas (Barran et al., 2012).

La descontaminación ambiental aprovecha la capacidad metabólica de microorganismos tolerantes a contaminantes para remediar suelos, lodos o aguas que contienen parámetros tóxicos (Rojas, 2011) y es viable con técnicas eficientes como la biorremediación asistida o dirigida, porque perfeccionan los procesos con la Bioestimulación o la Bioaumentación de las poblaciones microbianas encausando y acelerando el proceso de biodegradación. Una técnica exitosa y asequible, es emplear microorganismos eficientes como: las bacterias, microalgas y hongos que utilizan el contaminante como fuente principal de alimento o que generan enzimas que oxiden los tóxicos. Ante esta situación, la logística de la investigación se sintetiza en el siguiente árbol del problema (Figura 1) (Brutti et al., 2018).

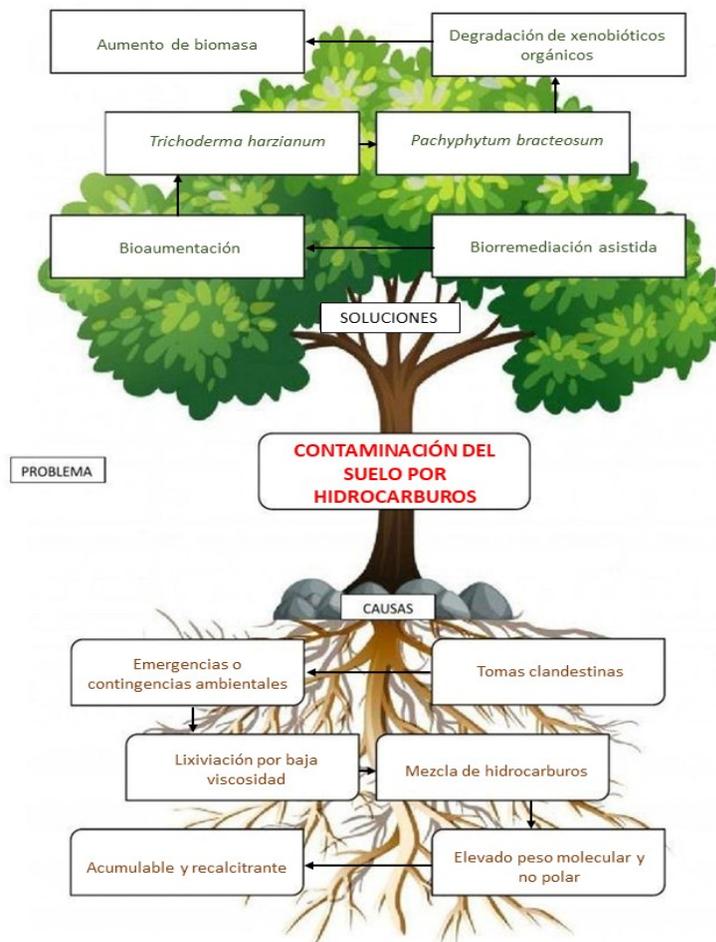


Figura 1. Árbol de problema de la investigación sobre la contaminación del suelo.

Seldrak (2023), refiere que los hongos son los microorganismos más poderosos que han fundado nuevos ecosistemas, constituyendo uno de los reinos más amplios y completos. Desde hace 1,000 millones de años en la historia del planeta tierra, los hongos han tenido un gran impacto, tanto en el ambiente como en la salud y alimentación humana, comiendo piedras, creando suelo, asimilando agentes contaminantes, produciendo alimento, generando medicina como la penicilina, e incluso, sobreviven en el espacio, y manipulan el comportamiento animal, influyendo en la composición de la atmosfera terrestre. Una de las cualidades que les permiten sobrevivir en condiciones extremas, es la capacidad de moverse en múltiples direcciones al mismo tiempo para explorar su medio como un todo integrado.

Un genero sobresaliente por sus cualidades y por ende el más estudiado es el hongo saprofito filamentoso *Trichoderma*, este hongo es reconocido por sus múltiples usos que van desde: biofungicidas, biofertilizantes, fuentes de enzimas, mejorador en la germinación de semillas, eficiencia en el uso de nutrientes en condiciones de estrés colonizando las raíces de las plantas de manera interna y externa, en la habilidad fotosintética e inductor de las defensas para responder al estrés abiótico como: la sequía, salinidad, metales pesados e hidrocarburos (Mukherjee et al., 2013). Por lo anterior, este hongo también es reconocido por su capacidad para degradar compuestos xenobióticos de suelo contaminado con Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP).

Otros organismos que recientemente se emplean en la remediación biológica son las plantas suculentas, el término suculenta proviene del latín “succus” que significa jugo o jugoso, haciendo referencia a todas aquellas plantas que almacenan grandes cantidades de agua en sus tejidos, algunas familias de las más sobresaliente son: agavaceae, crasulaceae, nalinaceae, euphorbiaceae y fouquieriaceae. Cerca del 80 % del cuerpo de estas plantas está compuesta de agua y prosperan generalmente en las zonas áridas del país, aunque se localizan también en los llamados enclaves xerofíticos, que son sitios pedregosos de poca retención de agua o humedad. La familia Crassulaceae es de distribución cosmopolita, con mayor diversidad en Asia Central, Sudáfrica, el Mediterráneo y México. Se calcula que esta familia está

integrada por unos 30 géneros con 1,400 especies aproximadamente, los géneros más destacados son *Echeveria*, *Graptopetalum*, *Sedum* y *Pachyphytum* (CONAFOR, 2005).

Siendo *Pachyphytum bracteosum*, endémica del estado de Hidalgo, cuyo periodo de floración es de enero a abril, con hojas distribuidas en forma de roseta de color gris-azulado. El potencial de las plantas de la familia Crassulaceae en la biorremediación, se fortaleció en el 2020, en actividades de restauración, a través del proceso de fitorremediación de un suelo contaminado con arsénico (As), cobre (Cu) y plomo (Pb), empleando las especies: Flor de peña (*Echeveria elegans*) y Árbol de jade (*Crassula ovata*), por lo que se consideran tolerantes y útiles en la descontaminación ambiental (Guzmán, 2021). Incluso, se proponen en medidas de mitigación en las azoteas verdes como medio para capturar Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (Arellano-Leyva, 2019).

Además de considerar organismos tolerantes en los procesos de descontaminación como los mencionados en los párrafos anteriores, también, se requieren parámetros fisicoquímicos del recurso natural afectado, en este caso, como el primer receptor del contaminante es el suelo, se requiere un análisis previo para conocer: el pH, nutrientes, temperatura, humedad, textura, estructura del suelo, concentración o pureza del contaminante, para determinar la supervivencia, adaptación, desarrollo y multiplicación de los organismos (Brutti et al., 2018).

Iturbe (2010), menciona que en la biorremediación asistida se requiere un pH intracelular entre 6.5 y 7.5, en cuanto a la temperatura, entre 20 a 35 °C (dependiendo el organismo), ya que a medida que aumenta la temperatura, las reacciones químicas y enzimáticas también aumentan en las células. En relación con los nutrientes, comúnmente no son disponibles, pero considerando que los organismos están hechos de compuestos orgánicos (CHON), para alimentarse requieren carbono, por lo que el contaminante debe contener un 50% y en cuanto al oxígeno, el suelo debe de tener al menos 1% para reacciones aerobias, si estas condiciones no se cumplen, los microorganismos mueren y se tiene que seleccionar otros organismos con cualidades anaeróbicas.

2. ANTECEDENTES

Los desperfectos antropogénicos en los oleoductos generan productos comúnmente denominados “huachicol”, sin embargo, la Real Academia Española define la palabra, como la actividad de traslado de combustible extraído ilícitamente de ductos (RAE, 2023), por lo que se refiere a esta investigación, se emplea el término “gasolina adulterada”, refiriéndonos a la mezcla adulterada de hidrocarburos que se extrae y comercia de manera clandestina, provocando la contaminación de los suelos por esta actividad.

Con base a su origen, la gasolina adulterada es un derivado del petróleo, un compuesto orgánico con una estructura de carbono e hidrógeno (Hernández et al., 2004). En cuanto a sus propiedades físicas, son compuestos no polares, es decir, son particularmente insolubles en agua, sin embargo, como es una mezcla de hidrocarburos, también, tiene compuestos aromáticos con algunos grupos funcionales (Castellanos, 1999).

El problema con la contaminación por hidrocarburos, es que el suelo acumula el contaminante en una concentración elevada que altera sus funciones y afecta negativamente a los componentes asociados (aire, agua y organismos). Cuando las sustancias peligrosas alcanzan un umbral de toxicidad en el suelo, se genera una contaminación persistente, en comparación a la del aire o el agua, es decir, los terrenos contaminados representan un riesgo de toxicidad por la lixiviación de las sustancias peligrosas (Porta et al., 2019).

2.1 Xenobióticos orgánicos

Los compuestos xenobióticos son elementos sintetizados por el humano, generalmente proceden de la industria y tienen estructuras diferentes a los compuestos naturales, por lo tanto, son tóxicos por persistir en el medio ambiente, la gran mayoría son cancerígenos y pueden actuar como interferidores hormonales. Y los hidrocarburos adulterados son compuestos que se pueden clasificar como

xenobióticos, sustancias o compuestos que alteran las funciones de los organismos, porque son extraños a él, provocando efectos nocivos a nivel celular y ecológico, ya que actúan como interruptores hormonales en los procesos de crecimiento, así como del desarrollo (Castillo F., 2005). Debido a que son sustancias fáciles de lixiviar, acumular y difíciles de degradar (Porta Casanellas et al., 2019).

2.2 Generalidades de los xenobióticos orgánicos

En las emergencias ambientales, el primer receptor es el suelo y considerando que es la base para el desarrollo de organismos que se alimentan de los compuestos que lo integran, cuando se exceden los límites máximos permisibles de algún elemento, se le considera un suelo contaminado, porque afecta los ciclos biogeoquímicos naturales, así como, la fertilidad, biodiversidad e incluso la calidad del agua y el aire (INIFAP, 2020), ya que altera su capacidad de campo, textura, disminución de conductividad y aumenta su densidad aparente, lo que se refleja en un suelo infértil (Morales et al., 2019).

Los contaminantes orgánicos son los que tienen enlaces C-H y se distinguen por un elevado peso molecular y su polaridad, propiedades que determinan su comportamiento en el suelo, así como sus posibilidades de eliminación. Es decir, los compuestos de bajo peso molecular se pierden por volatilización, en cambio, los de alto peso molecular son recalcitrantes y perdurarán años en el suelo, ya que una molécula de peso molecular alto, con carácter no polar, constituyen uno de los contaminantes orgánicos más persistentes, como los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (Porta Casanellas et al., 2019), que son compuestos constituidos por dos o más anillos aromáticos condensados, en forma recta, angulados o racimados, con la cualidad de desarrollar efectos genotóxicos (Mastandrea et al., 2005). Sin embargo, los aromáticos unidos a ciertos grupos funcionales, les confieren cierta polaridad, con la cual, se podrían hacer solubles en agua (Castellanos, 1999).

2.3 Biorremediación asistida o dirigida

La remediación biológica es una técnica que emplea plantas, bacterias, hongos y microalgas, para eliminar, transformar o acumular contaminantes, en función de su estructura, metabolismo y funcionamiento, con procesos como: biodegradación de compuestos orgánicos, bioacumulación o biosorción de metales, biotransformación de moléculas inorgánicas, metales y metaloides tóxicos (Acosta Peñaloza, 2022).

El empleo de microorganismos para reducir y tratar la contaminación se remonta al año 600 a. C., y se atribuye el nacimiento de la biorremediación con la manipulación de microorganismos para el tratamiento de aguas residuales, los primeros reportes hacen referencia a los romanos, quienes diseñaron y construyeron sistemas de alcantarillado para la recolección de aguas residuales para su posterior tratamiento biológico (Rincón, 2004).

Hoy en día tenemos bien definido el término biorremediación, como una alternativa económica y eficiente para eliminar la contaminación de forma natural (INIFAP, 2020). La biorremediación o remediación biológica utiliza agentes como microorganismos y sus enzimas, debido a la capacidad natural de los microorganismos para eliminar, transformar y acumular xenobióticos, ya que muchos de los compuestos de los contaminantes se acumulan en cadenas tróficas (Acosta Peñaloza, 2022).

Los métodos comunes la clasifican con base a su aplicación ex situ y in situ, lo que implica su tratamiento fuera del sitio o en el sitio, sin embargo estos métodos tienen tratamientos, en el caso de la biorremediación in situ, existe la bioestimulación y la bioaumentación. La primera involucra la estimulación de la población microbiana con nutrientes y oxígeno, pero la bioaumentación incorpora un microorganismo u consorcio en el sitio contaminado (Rincón, 2004).

Un mecanismo exitoso en la descontaminación de hidrocarburos es la biorremediación asistida en comparación con la biorremediación intrínseca o natural, un proceso que perfecciona a través de la bioestimulación o la bioaumentación de poblaciones microbianas, su crecimiento, desarrollo y

multiplicación con la adición de nutrientes, oxígeno, peróxidos y agua (Brutti et al., 2018).

2.4 Descontaminación con el hongo *Trichoderma harzianum*

De mesa et al., (2006), reporta que la descontaminación de gasolina por microorganismos saprofitos es eficaz, alcanzando un nivel de biodegradación de 90% como resultado de utilizar los contaminantes como fuente de energía, transformándolos en dióxido de carbono, un radical metilo, agua, sales inorgánicas, metabolitos secundarios o biomasa (Acosta Peñaloza, 2022). Un microorganismo con potencial, son los hongos, que se han caracterizado por su diversa capacidad metabólica, morfología robusta, rápida colonización; además, de poseer altas actividades enzimáticas oxidativas e hidrolíticas (Juárez, 2020).

Por ejemplo, los hongos del género *Trichoderma*, tienen requerimientos nutrimentales mínimos, su crecimiento es favorecido por materia orgánica, humedad y temperatura en un rango de 25 a 30 °C, además, de adaptarse a condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad (Argumedo et al., 2009). Sin embargo, en esta investigación su capacidad de usar hidrocarburos como única fuente de carbono lo hizo sobre salir, además de tener la capacidad de utilizar cosustratos para alcanzar una biorremediación eficiente (Juárez, 2020). Sus genomas albergan genes de producción de auxinas, giberelinas, ácido abscísico, ácido salicílico o citoquininas que se relacionan con el crecimiento de hifas, activación de antioxidantes, así como defensas bajo estrés abiótico y biótico, lo que le proporciona inmunidad a la planta huésped. Cuando se usan cepas solas o en combinación con compost orgánico producen cambios en la estructura y función de las poblaciones microbianas generando sideróforos que ayudan en la rizosfera solubilizando fosfatos que generan un desarrollo en el crecimiento de las plantas (Woo et al., 2023).

Incluso, se ha reportado la capacidad que tiene *Trichoderma harzianum* (Figura 2), para degradar hidrocarburos saturados y aromáticos (Argumedo et al., 2009).

Debido a que es una especie fácil de aislar en medios artificiales, resistente a radiación UV, buen competidor en suelo, tolerante a variaciones ambientales, también, se puede observar en la rizosfera como endófito, favoreciendo la supervivencia de bacterias promotoras de crecimiento y múltiples mecanismos de acción (De Medeiros et al., 2019). Además, son hongos saprófitos que remodelan constantemente su genoma para mejorar su capacidad para colonizar y competir con éxito en nuevos hábitats (Woo et al., 2023).

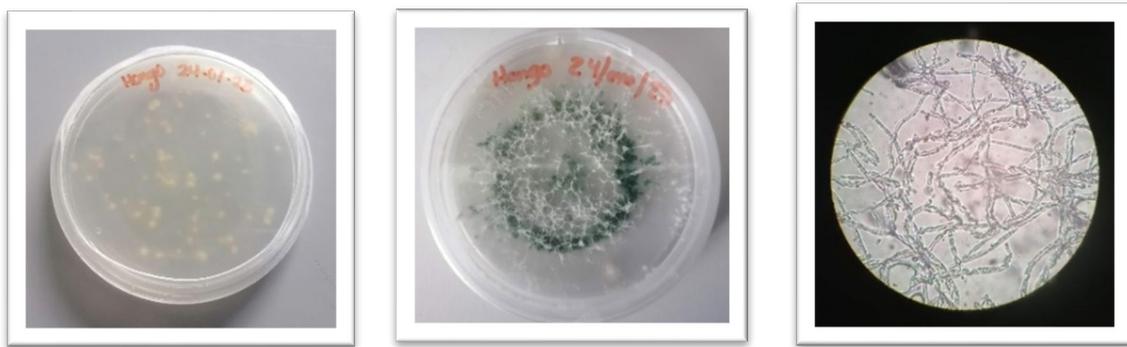


Figura 2. Hongo *Trichoderma harzianum* activo en el medio de cultivo.

2.5 Descontaminación con plantas suculentas *Pachyphytum bracteosum*

Considerando que un solo microorganismo no tiene la capacidad metabólica de descontaminar muchos compuestos por lo que se requieren diferentes poblaciones para una degradación completa o la mineralización (Acosta Peñaloza, 2022). Por esto, afortunadamente, se cuenta con la biorremediación asistida de suelos; también, se basa en el uso conjunto de plantas con enmiendas del suelo y técnicas agronómicas para eliminar, retener, o disminuir la toxicidad de los contaminantes. Este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas, porque no utilizan reactivos o químicos peligrosos, ni afectan negativamente a la estructura del suelo (Esquinca, 2016).

El empleo de plantas para el tratamiento de aguas, sedimentos o suelos contaminados se basa en las asociaciones de sus raíces con microorganismos para degradar, secuestrar o extraer los contaminantes a través de seis mecanismos;

fitoextracción, fitovolatilización, rizofiltración, fitoestabilización, fitoestimulación y fitodegradación (Delgadillo-López, 2011).

Comúnmente las especies empleadas en la fitorremediación tienen varias características específicas como: la alta producción de biomasa, raíces profundas, rápido crecimiento, tolerancia para prosperar en sitios contaminados y buena competitividad por luz, nutrientes o agua (Zimicz, 2016).

Una familia cosmopolita y con potencial en la remediación de suelos con problemas de salinidad, contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos y metales pesados, son las plantas de la familia Crassulaceae (Guzmán, 2021). Las crasuláceas pertenece al orden Saxifragales dentro de las eudicotiledóneas, generalmente son plantas crasas, de hábitos herbáceos e incluso arbustivos, perennes en su mayoría, con inflorescencias actinomorfas pequeñas. También, se distribuyen en diferentes hábitats desde riscos, laderas, cañadas y pedregales, en ecosistemas húmedos, cálidos, secos o semisecos. Y México es uno de los centros de diversidad con 417 especies, que representan el 25 % de esta familia a nivel mundial (Reyes, 2011). En cuanto a sus usos se distinguen como plantas ornamentales (CONAFOR, 2005). Y son endémicas en los estados de México, Querétaro e Hidalgo, en las zonas semiáridas, se localizan 31 especies (CONABIO, 2021), destacando la especie *Pachyphytum bracteosum* (Figura 3).



Figura 3. Pachyphytum bracteosum planta suculenta de la familia Crassulaceae, endémica del estado de Hidalgo.

2.6 ANÁLISIS CON ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)

La espectroscopía infrarroja proviene del latín *infra*, que significa *abajo* y se interpreta como *abajo del rojo*. La luz del infrarrojo es una longitud de onda ubicada entre: la luz visible y a las ondas del microondas, se sitúa específicamente entre los 200 - 12,500 cm^{-1} y de los 750 a 1,000 μm del espectro electromagnético. Utiliza la frecuencia (ν) proporcional a la energía de la longitud de onda (λ) comúnmente expresada $\nu = 1 / \lambda, \text{cm}^{-1}$ (Ponce et al., 2023).

Esta técnica se emplea para: identificar la transformación de reactivos en productos, ver la desaparición de los grupos o formación de los nuevos, conocer la pureza de un reactivo, su estructura, identificar compuestos desconocidos comparando espectros de sustancias e identificar contaminantes, aditivos en materiales o sustancias. El infrarrojo IR realiza un análisis con base a la información cualitativa y cuantitativa de la estructura molecular a través de la vibración de las moléculas, determinando los grupos funcionales, caracterizando la estructura en un intervalo de longitud de onda que va de 4,000 – 650 cm^{-1} (Ponce et al., 2023).

Las moléculas absorben la radiación infrarroja, causando una amplitud en la vibración de los enlaces atómicos en una longitud de onda, lo que permite identificarlas porque se sitúan en un estado vibracional excitado. Para que la molécula absorba la radiación, debe de ser una molécula polar y que la energía sea del mismo valor de vibración que poseen las moléculas. Otros factores que influyen son: su composición química, átomos, enlaces y ángulos de enlaces (Ponce et al., 2023).

Cuando hay mayor absorción, menor es la cantidad de energía que se detecta en el espectro en forma de pico o banda de absorción, cuando la absorción es nula o cercana al 100 corresponde al cero, porque no hay registro de absorción. Cuanto más fuertes y rígidos son los enlaces químicos, mayor son las frecuencias (menor longitud de onda), debido a que requieren más energía para una vibración de alargamiento o flexión y es una técnica que se emplea en la industria como control de calidad, para determinar contaminantes o tipo de contaminante (Ponce et al., 2023).

3. JUSTIFICACIÓN

Cuautepec de Hinojosa en el 2019 se convirtió en el municipio con mayor número de tomas clandestinas, contaminando la laguna de San Juan Hueyapan, debido a que en esta laguna llegan todos los escurrimientos de la región (López, 2019). Considerando los antecedentes del municipio, es importante establecer actividades que minimicen o degraden la contaminación que se generó por los hidrocarburos extraídos de manera clandestina con una técnica práctica para replicar de manera sencilla. Una alternativa eficiente, es la técnica de biorremediación asistida, las ventajas que posee la biorremediación son: bajo costo, facilidad de replicación, aprovechamiento de recursos y garantizar la reducción de los contaminantes (Martínez et al., 2021).

Empleando una simbiosis entre las especies vegetales y los microorganismos presentes en la rizosfera, los microorganismos en ocasiones pueden disminuir la toxicidad para las plantas, lo cual se logra a través de las enzimas o metabolismos que tienen, convirtiendo los contaminantes en ácidos, alcoholes, dióxido de carbono, e incluso agua (Martínez et al., 2021). Lo que permite conservar y preservar los suelos, un recurso no renovable que tarda años o cientos de años de formación, pues los contaminantes inhiben su correcto funcionamiento en un ecosistema, interrumpiendo su funcionalidad (Brutti et al., 2018).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- ✓ Evaluar la eficiencia de *Trichoderma harzianum* y *Pachyphytum bracteosum*, en la descontaminación del suelo por gasolina adulterada, a través de la técnica de biorremediación asistida.

4.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar los xenobióticos orgánicos de la gasolina adulterada.
- ✓ Proponer a *Pachyphytum bracteosum* como una planta tolerante a xenobióticos orgánicos de la gasolina adulterada.

5. HIPÓTESIS

5.1 Hipótesis alternativa

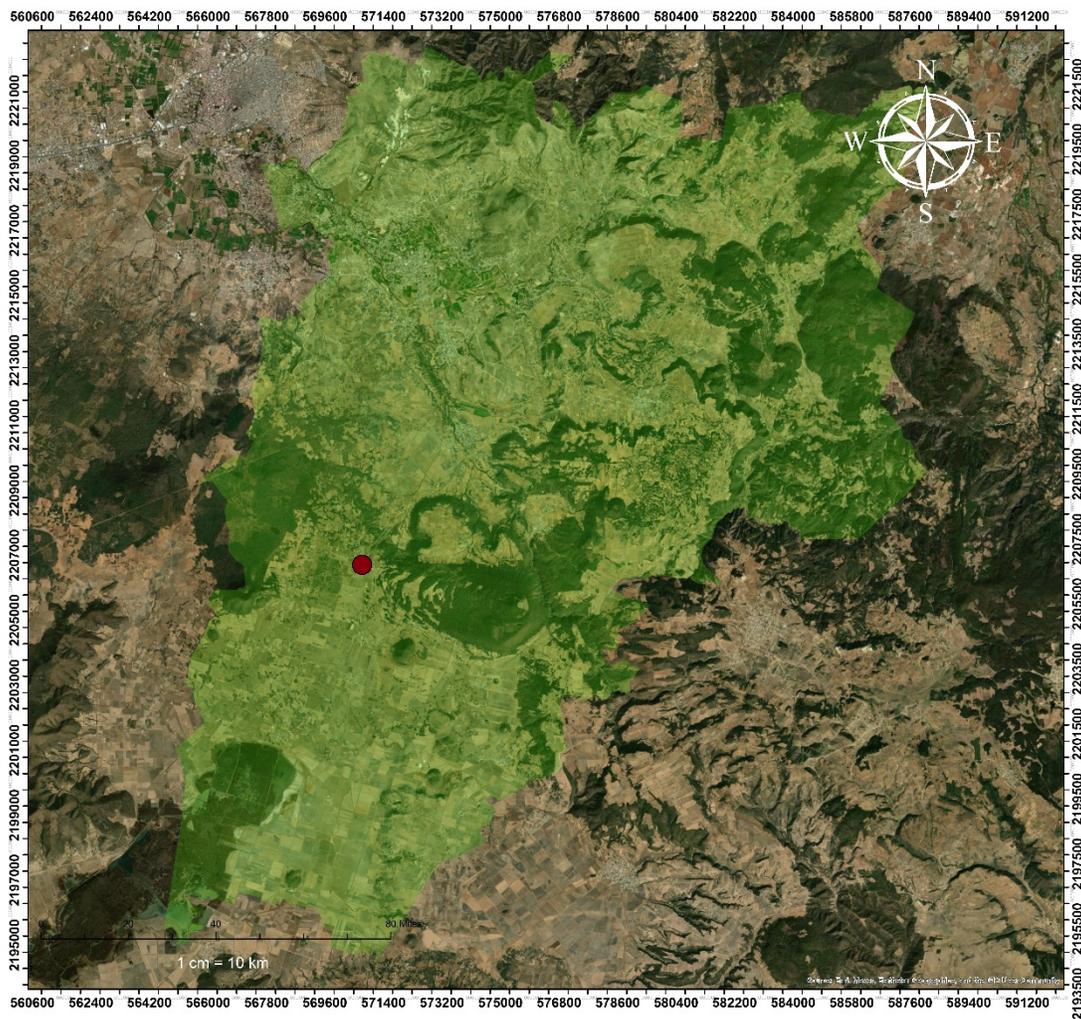
Ha: La asociación de *Trichoderma harzianum* y *Pachyphytum bracteosum*, aumentaron la eficiencia en la degradación de la gasolina adulterada en el suelo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Área de estudio

La Procuraduría Federal de Protección al Ambiente de septiembre del 2021 a junio del 2022 reportó la atención de 766 emergencias ambientales, de las cuales 200 fueron por derrames de hidrocarburos, lo que representa un 26 % de las emergencias reportadas (SEMARNAT, 2022). Un área con varios reportes en este tema fue el municipio de Cuauhtémoc de Hinojosa, ubicado entre los paralelos 19° 50' y 20° 06' de latitud norte; los meridianos 98° 09' y 98° 24' de longitud oeste, con una superficie que representa 1.88 % del estado de Hidalgo. El municipio cuenta con 99 localidades, incluida la llamada "El aserradero", situada específicamente en las coordenadas X:0981933, Y:195714 (Figura 4) y se encuentra a una altitud de 2,610 msnm. También, es importante mencionar que pertenece a una cuenca exorreica de la región hidrológica del Panuco (INEGI, 2010) y cuenta con 23 acuíferos (CONABIO, 2021). El aserradero tiene un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, una humedad relativa media (77.13%) con tendencia a semifrío subhúmedo con lluvias en verano y un rango de precipitación entre 500-1100 mm, predominando los suelos empleados en la agricultura (63.59%), bosque (22.23%), pastizal (6.14%) y una zona urbana (5.02%), la localidad sufre daños por fenómenos naturales como sequía y heladas, lo que genera un nivel bajo de biodiversidad. Tiene una población total de 732 personas, un índice de desarrollo humano del 0.69, un índice educativo de 0.55, un índice de salud de 0.83, un índice de ingresos de 0.71 y un grado de marginación medio (INEGI, 2010). Es decir, la localidad carece de drenaje, telecomunicaciones, infraestructura para espacios culturales y recreativos. La comunidad realiza actividades como cultivo de maíz y cebada para consumo familiar, así como la cría de animales, aprovechamiento de árboles, recolección de hierbas o plantas y como única actividad económica tienen la cosecha de productos agrícolas. También, presenta conflictos sociales como alcoholismo y drogadicción, además, de tener inconvenientes relacionados a la extracción ilegal de hidrocarburos (Administración de Cuauhtémoc de Hinojosa, 2020).

Ubicación geográfica de "El aserradero".





Coordinate System: GCS WGS 1984
 Datum: WGS 1984
 Units: Degree
 Localidad: El aserradero
 Elaboró: Ing. Ana Laura Hernández Méndez

SIMBOLOGÍA

- "El aserradero"
- Cuautepec de Hinojosa

Coordenadas UTM	
X	Y
570473	2206423

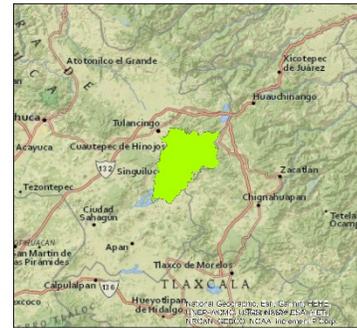


Figura 4. Mapa de Ubicación de la ranchería "El aserradero" ubicado en el municipio de Cuautepec de Hinojosa, en el estado de Hidalgo.

6.2 Desarrollo del experimento

Su desarrollo se realizó en condiciones controladas en un invernadero, empleando macetas de plástico con capacidad de 2 kilos de suelo contaminado, para determinar el tiempo de degradación de la gasolina adulterada con los organismos tolerantes a los xenobióticos, la investigación consideró un cuidado semanal que incluyó: riegos y registros de temperatura durante los cuatro meses de investigación (Severiano, 2022).

6.3 Biorremediación asistida

La biorremediación asistida en los suelos requiere ciertas características para realizarse de manera eficiente y uno de los primeros pasos, es determinar las propiedades fisicoquímicas del suelo, debido a que los hidrocarburos alteran sus características o propiedades (Morales-Bautista et al, 2019), para confirmar los parámetros adecuados primero se realizó un análisis con base a la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad, clasificación de suelos, estudio, análisis y muestreo.

6.4 Análisis del suelo

Se determinaron los parámetros básicos para diagnosticar la calidad del suelo perturbado, con base a la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, análisis y muestreo. Para realizar la caracterización de las propiedades fisicoquímicas del suelo, la muestra se trasladó al laboratorio del AACAyF del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAP).

Primero, se preparó la muestra para su análisis 48 horas antes (AS-01), determinando el pH con potenciómetro en una mezcla suelo:agua 1:2 (AS-02), posteriormente, se calculó la densidad aparente del suelo con el método del terrón parafinado (AS-03), consecutivamente, se calculó el contenido de humedad del

suelo con el método gravimétrico (AS-05), también, se calculó el porcentaje de materia orgánica (MO), a través del método Walkley y Black (AS-07), al mismo tiempo, se evaluó la textura con el método de Bouyoucos (AS-09) y el color utilizando la carta Munsell de suelos (AS-22). En cuanto al nitrógeno total, fosforo asimilable, potasio, calcio, azufre, capacidad de campo y porcentaje de punto de saturación, se determinaron con recursos personales en el laboratorio central universitario de la Universidad Autónoma Chapingo (Anexo 1).

6.5 Parámetros tóxicos

En cuanto a los parámetros tóxicos del suelo contaminado, se consideraron los establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. En función de los fines y las condiciones de la investigación, se optó por la fracción de hidrocarburo pesada, estimando una densidad de 0.6500 g/cm³ con base a la calidad de la gasolina comercial (PEMEX, 2018), para asegurar el parámetro de esta variable independiente, se trabajó con 300 ml de gasolina adulterada en 2 k de suelo por maceta, lo que representa una fracción de hidrocarburo pesada, tal como se puede observar en la descripción del Cuadro 1, que puntualiza los límites máximos permisibles de la Norma Oficial Mexicana 138.

Cuadro 1. Límites máximos permisibles para fracciones de hidrocarburos en suelos.

FRACCIÓN DE HIDROCARBURO	USO DE SUELO PREDOMINANTE (mg/Kg⁻¹ BASE SECA)
Media	1200
Pesada	3000

6.6 Análisis con infrarrojo IR

En relación, con el objetivo de probar que *Pachyphytum bracteosum* es una planta tolerante a xenobióticos orgánicos presentes en la gasolina adulterada, se analizó el suelo y las plantas con espectroscopía infrarroja en un espectrofotómetro de

infrarrojo IR marca PerkinElmer: Spectrum GX FT-IR System con muestras sólidas purificadas con pastillas de bromuro de potasio (KBr) de grado infrarrojo de 4000-450 cm^{-1} , para distinguir la presencia o ausencia de los grupos funcionales de los xenobióticos orgánicos en las muestras (Ordoñez, 2020).

6.7 Variables respuestas

En la parte aérea como variables independientes, se consideró: la supervivencia de plantas en un medio contaminado, la biomasa total de la planta en gramos, la altura y la longitud de raíz en centímetros (Marín, 2020). Para detectar diferencias estadísticas significativas ($P=0.05$), se empleó un análisis estadístico en el Software SAS, específicamente, un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias con la técnica de Tukey (Montgomery, 2007).

6.8 Diseño experimental

Con la finalidad de evaluar la eficiencia de *Trichoderma harzianum* y *Pachyphytum bracteosum*, en la descontaminación de gasolina adulterada, a través de la técnica de biorremediación asistida, se ensayaron cinco tratamientos más un control negativo (todos utilizando suelo contaminado), cada uno con 12 repeticiones, replicando las técnicas más exitosas de la biorremediación asistida (Valenzuela et al., 2021). Las condiciones empleadas en la investigación fueron un arreglo experimental a nivel invernadero:

Tratamiento 1) Inoculación de hongo *Trichoderma harzianum* (H): en un medio con suelo contaminado se inoculó mediante el riego el hongo (BIOADVISER, 2020), específicamente, una cepa comercial en forma de polvo humectable de la marca Palhogar un producto 100% orgánico, en una concentración de 100 millones de esporas por gramo, las dosis aplicadas se presentan en el Cuadro 2, (Pesantes y Castro, 2016).

Cuadro 2. Concentración de esporas empleadas en la inoculación de Trichoderma Harzianum.

Mes	Concentración	Número de esporas
1	8 gramos / 1 litro de agua potable	8×10^8
2	8 gramos / 1 litro de agua potable	8×10^8
3	10 gramos / 1 litro de agua potable	1×10^9
4	25 gramos / 1 litro de agua potable	2.5×10^9

Tratamiento 2) Trasplante de *Pachyphytum bracteosum* (P): en un suelo contaminado se trasplantó una planta (Figura5), procedente del vivero *vivo interior*, el tamaño de los esquejes fue de cuatro pulgadas (Esquinca, 2016).



Figura 5. Plantas de Pachyphytum bracteosum empleadas en el tratamiento 2.

Tratamiento 3) Adición de nutrientes y oxígeno (N): suelo contaminado más incorporación de fosfato cálcico $\text{Ca}^3(\text{PO}_4)^2$ en el segundo mes, estiércol bovino en el tercer mes (Alanya y Clemente, 2022), ácidos fúlvicos en el cuarto mes (Ojeda-Morales et al., 2023), más ventilación con movimiento y perforación del suelo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Cantidad de nutrientes y oxígeno incorporado al suelo en el tratamiento tres.

ADICIÓN	CANTIDAD
Oxígeno	Se adiciono oxígeno a través de la ventilación con el movimiento el suelo de la maceta, una vez por mes en los primeros dos meses.
Fosfato cálcico $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	El primer mes se incorporó 0.1 g de fertilizante molido por maceta.
Estiércol bovino	El segundo mes se mezclaron 300 g en seco con suelo contaminado.
Ácidos fúlvicos	Se aplicaron 200 ml por macetas en el último mes.

Tratamiento 4) Adición de oxígeno, hongo, planta y nutrientes (V+H+P+N): En el suelo contaminado se integraron las tres condiciones antes descritas, aplicando al mismo tiempo la incorporación de oxígeno, la cepa del hongo, el trasplante de la planta y la adición de los nutrientes con el estiércol y ácidos fúlvicos (Marrero-Coto, 2012).

Tratamiento 5) Control negativo: con el objetivo de comparar las variables respuestas de los tratamientos su utilizó está condición de suelo contaminado, que tendría que ser testigo, pero resultó ser un medio contaminado que asegura la veracidad de los resultados (Ramírez Ríos, A., & Polack Peña, A. M., 2020).

Con base a los tratamientos y sus variables dependientes e independientes, se determinó que un diseño *completamente al azar* representaría mejores resultados y para asegurar su análisis se efectuaron muestreos destructivos a los 30, 60, 90 y 120 días después del inicio del experimento, considerando tres muestras por tratamiento y una muestra de suelo por maceta (Severiano, 2022).

7. RESULTADOS

Los resultados demostraron que el suelo cuenta con parámetros dentro de los rangos básicos para aplicarse la técnica de biorremediación asistida (Cuadro 4), debido a que tiene las condiciones físicas y químicas para el desarrollo de los microorganismos elegidos para la descontaminación del suelo afectado como primer receptor (Iturbe, 2010). En la interpretación de la línea base del suelo, se determinó la textura *franco-arcillosa*, en donde predomina el limo, que influye directamente en su cualidad en aireación, drenaje, disponibilidad de oxígeno y la capacidad de retener agua, ya que las proporciones en las partículas son: 38 % limo, 32.88 % arcilla y 29.12% arena. En cuanto al contenido nutrimental va de medio para calcio (Ca) alto en nitrógeno total (Nt), fosforo asimilable (P), potasio (K) y azufre (SO₄) por el contenido alto de Materia Orgánica (MO).

Cuadro 4. Resultados de propiedades fisicoquímicas del suelo, interpretados como línea base.

ANÁLISIS	RESULTADO	INTERPRETACIÓN
pH	7.54	Ligeramente alcalino
Densidad aparente	1.41 gcm ⁻³	Moderadamente compactado
Humedad	23.72 %	Medio
MO	9.3 %	Muy alta
Textura	Cr	Franco arcilloso
Color	Húmedo: 5YR 5/2 Seco: 5YR 4/2	Húmedo: marrón rojizo oscuro Seco: gris rojizo oscuro
N total	0.19 %	Alto
P	83.84 mg kg ⁻¹	Alto
K	956 mg kg ⁻¹	Alto
Ca	2499 mg kg ⁻¹	Medio
SO ₄	0.2 me L ⁻¹	Alto
C.C.	28.78 %	Medio-alto
Punto de saturación	49.19 %	Alto

Fuente: Elaboración propia.

Con relación a la temperatura ambiente es importante considerar que el experimento se realizó de agosto a noviembre del 2023 y en promedio la temperatura en el invernadero fue de 35.82 °C, con una temperatura máxima de 47°C y una mínima de 18°C (Cuadro 5).

Cuadro 5. Temperatura ambiente en el invernadero.

No.	FECHA	TEMPERATURA °C
1	11/ago/23	42
2	18/ago/23	18
3	25/ago/23	27
4	01/sep/23	42
5	8/sep/23	47
6	15/sep/23	45
7	22/sep/23	44
8	29/sep/23	40
9	06/oct/23	33
10	13/oct/23	28
11	20/oct/23	34
12	27/oct/23	24
13	03/nov/23	25
14	10/nov/23	41
15	17/nov/23	40
16	24/nov/23	43
17	01/dic/23	35
18	08/dic/23	10

8.1 Parámetro toxico

Con base a la Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, se determinó que 300 ml de gasolina adulterada con una densidad de 0.6500 g/cm³

equivalen a 650 mg/ml o 195,000,000 $\mu\text{g/ml}$ en dos kilos de suelo, lo que rebasa a una fracción pesada.

8.2 Análisis con Infrarrojo IR

La espectroscopía infrarroja IR (*Infrared Radiation*) se empleó para identificar los compuestos o predecir la estructura química de la sustancia no conocida (gasolina adulterada) a través de los grupos funcionales existentes en la molécula, para determinar la presencia o ausencia de los xenobióticos orgánicos a los 30, 60, 90 y 120 días de tratamiento.

En la línea base se identificaron los grupos funcionales del contaminante y el suelo procedente de una toma clandestina y clausurada, determinando en las bandas del infrarrojo del suelo frecuencias de estiramiento de los siguientes grupos: 1) Alqueno ($=\text{CH}$) en una posición de 3621 cm^{-1} , debido a que las bandas por encima de los 3000 cm^{-1} sugieren la presencia de insaturados alquenos o aromáticos. 2) Alcano ($-\text{CH}_3$) en la longitud de onda de 2872 a 2958 cm^{-1} y 3) Carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) en una banda de absorción de 1649 cm^{-1} (Ponce et al. 2023), tal como se puede observar en el espectro infrarrojo de la Figura 6.

En relación con la huella dactilar que va de los 1500 a los 500 cm^{-1} , se identifican bandas de un alcano con una tensión en la longitud de onda 1383 cm^{-1} y un sustituyente en posición 1- y flexiones o tensiones fuera del plano en posición de la longitud de onda 795 cm^{-1} , 693 cm^{-1} , 537 cm^{-1} , 470 cm^{-1} y 430 cm^{-1} .

Es importante especificar que el suelo testigo se tomó a 100 m de la toma clausurada, lo que nos revela que el contaminante se ha extendido de manera horizontal, convirtiendo la muestra testigo en un control negativo en esta investigación, como primer resultado en el análisis con infrarrojo IR.

La comparación entre el suelo y el contaminante nos muestra una diferencia en la longitud de onda con puntos flexión y torsión en la huella dactilar, lo que nos confirma que es un compuesto hidrocarbonado, derivado de una mezcla de alifáticos y aromáticos.

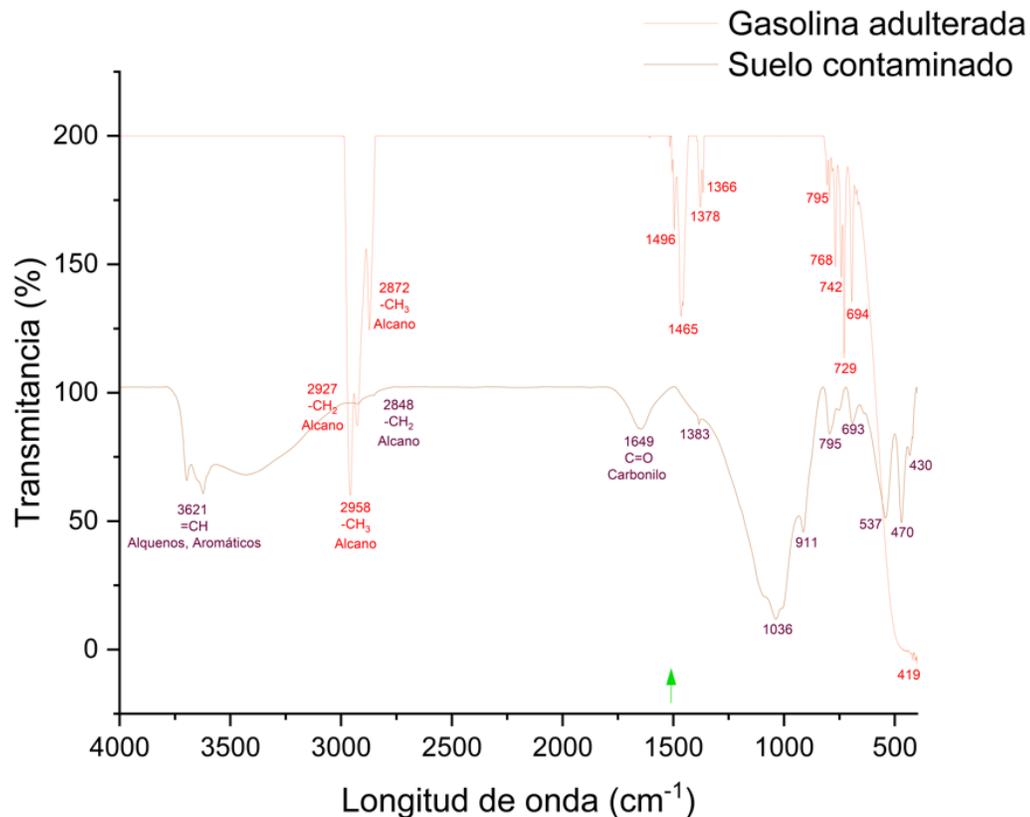


Figura 6. Infrarrojo IR que compara la gasolina adulterada con el suelo procedente de una toma clausurada, como línea base en la investigación.

Comparando las bandas del espectro a los 30 días con el inicial (Figura7), las condiciones con: planta, hongo y V+H+N+P, son diferentes en comparación con las condiciones nutrientes y control negativo. Lo que se puede interpretar como una menor longitud de onda para alcanzar su momento dipolar del alcano (-CH₃) en el suelo contaminado, debido a que no hay una vibración en la misma frecuencia de estiramiento. Además de aparecer un enlace con diferencia de absorción, específicamente un alcohol (O-H), en donde al inicio se observaba un alqueno (=CH) en la línea base, así como la ausencia de un aromático en un sobretono de

flexión fuera del campo C-H, en un grupo de dos bandas pequeñas características de un patrón de sustitución en el control negativo (Ponce et al., 2023).

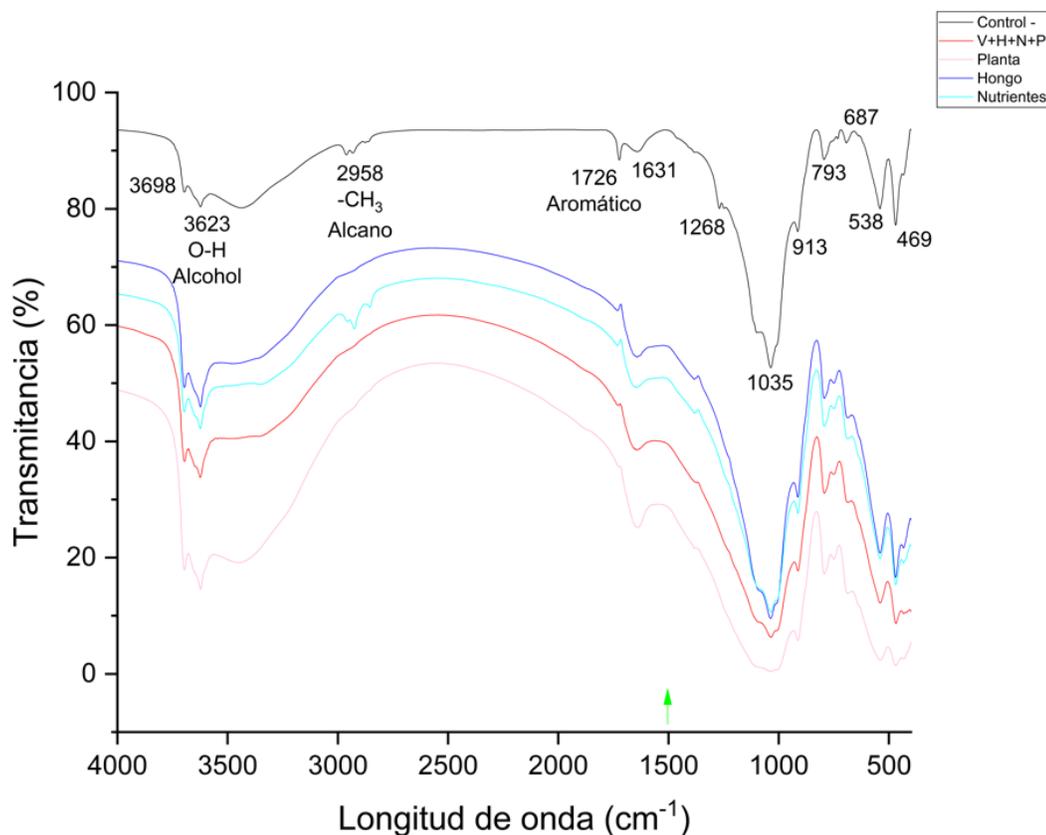


Figura 7. Análisis de los tratamientos a los 30 días en comparación con el control negativo.

Los resultados de las bandas a los 60 días, confirman a través del gráfico dimensional, concretamente en la longitud de onda, comparando en paralelo todos los tratamientos, el cambio de un alqueno ($=CH_2$) a un alcohol (O-H) y un sobretono de un alcano en una frecuencia de longitud de onda de 2857 a 2961 cm^{-1} ($-CH_3$), así como un grupo carbonilo, en una longitud de onda de 1722 cm^{-1} ($C=O$) en todos los tratamientos (Ponce et al., 2023).

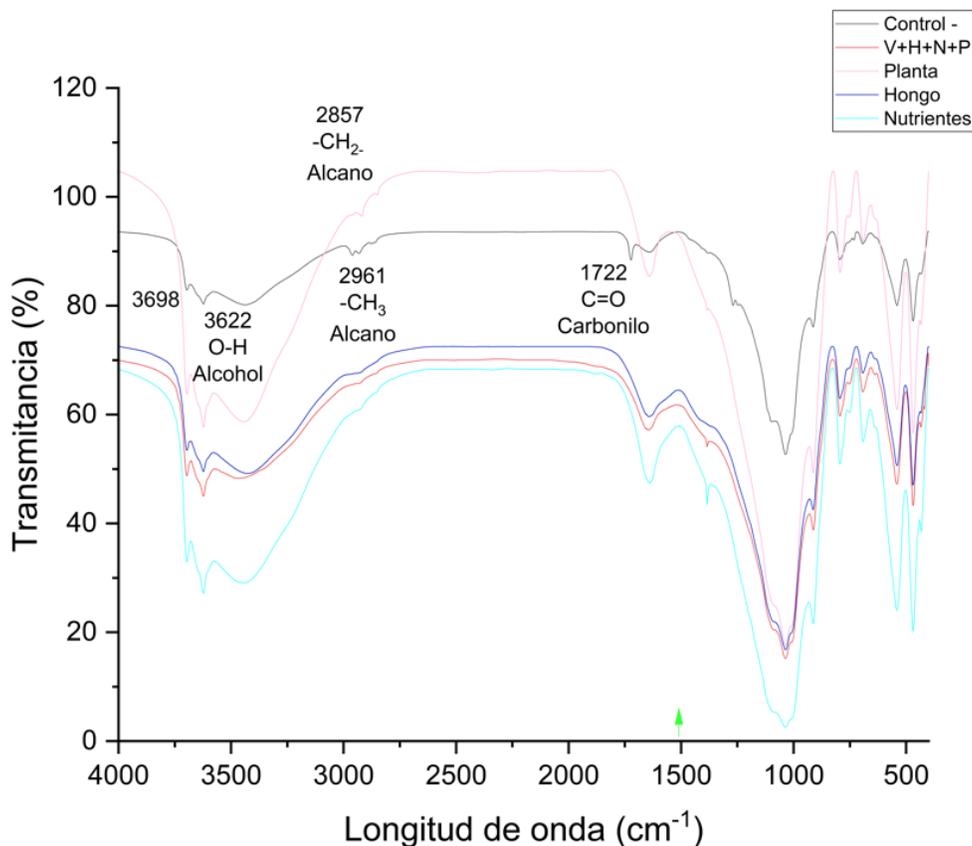


Figura 8. Análisis de los tratamientos a los 60 días en comparación con el control negativo.

El espectro de los tratamientos a los 90 días (Figura 9), verifica los cambios observados desde los 30 días en donde el grupo alqueno (=CH), se transformó en un alcohol (O-H) en un estado libre sin asociar, común en disolventes no polares en una posición entre 3640 – 3610 cm⁻¹ (Ponce et al., 2023).

Además, de formar un nuevo grupo funcional de ácido carboxílico (O-H) en el tratamiento V+H+N+P en una frecuencia por puente de hidrógeno, con patrón de sobretono de la torsión entre 2800-2200 cm⁻¹, un sobretono de un alcano a 2911 cm⁻¹ y un alqueno a 1673 cm⁻¹ (Ponce et al., 2023).

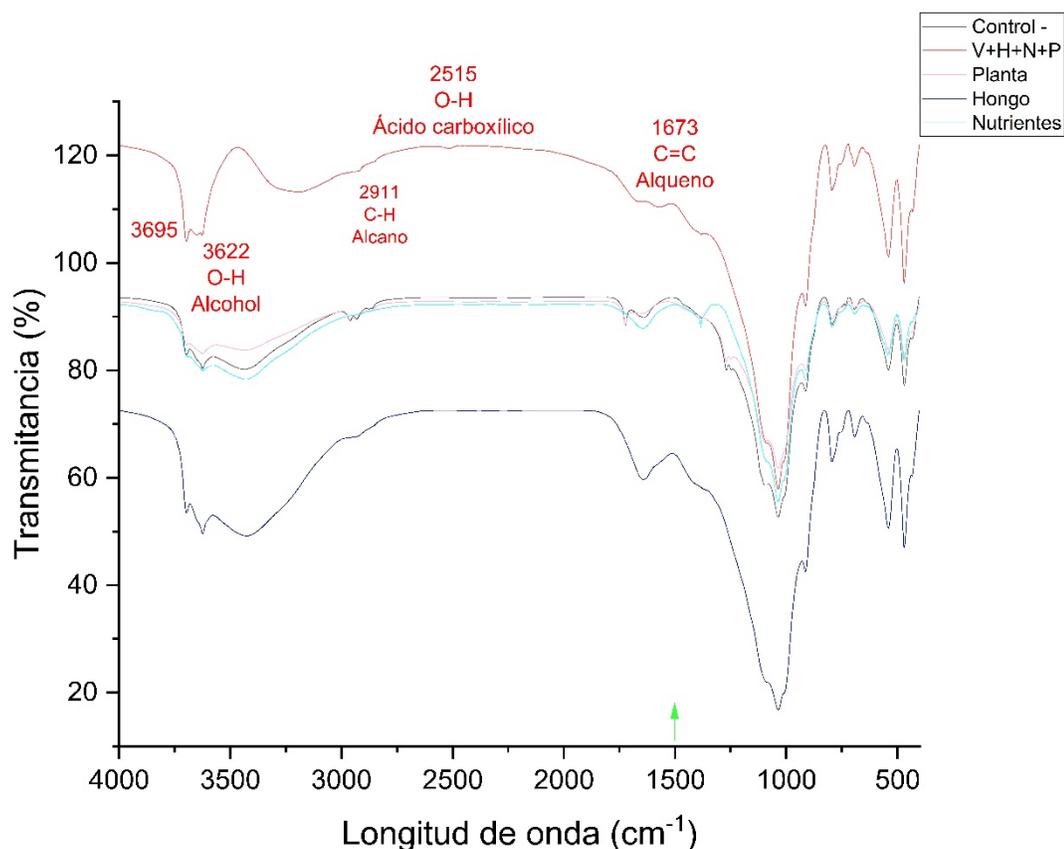


Figura 9. Análisis de los tratamientos a los 90 días en comparación con el control negativo.

En esta última interacción de la luz infrarroja con el suelo a los 120 días (Figura 10) de tratamiento en las diferentes condiciones, se reconoció la transformación de la posible estructura desconocida del contaminante denominado gasolina adulterada, con la presencia de los siguientes tres grupos funcionales en el infrarrojo: 1) Alcohol (O-H): En una longitud de onda con una amplitud de vibración molecular de 3698 a 3622 cm⁻¹ y multiplicidad, presente en todos los tratamientos. 2) Alcano (-CH₂): Con una vibración de tensión en un sobre tono de 2933 a 2924 cm⁻¹, en todas las condiciones del experimento. 3) Carbonilo (C=O): En una posición de 1500 a 1712

cm⁻¹, patrón de sustitución que generalmente oculta señales de aromáticos, solo en el tratamiento con el hongo *Trichoderma harzianum*.

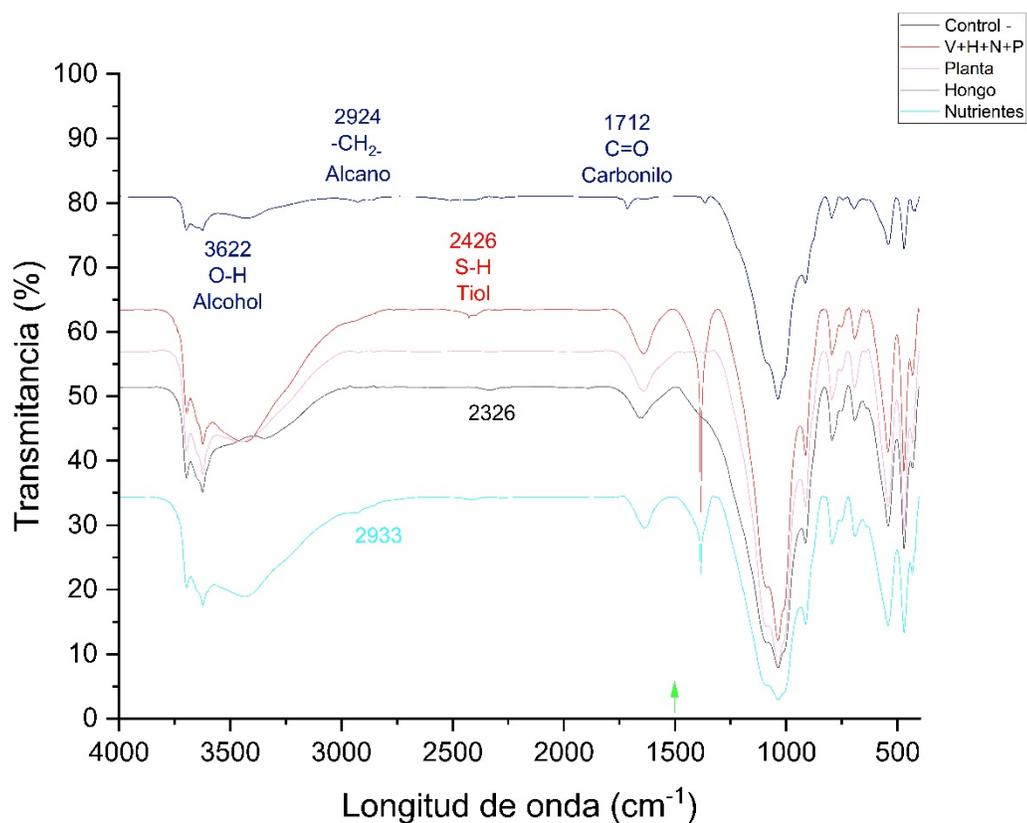


Figura 10. Infrarrojo IR de los tratamientos a los 120 días en comparación con el control negativo.

Lo que confirma que los cuatro tratamientos requieren más tiempo para la degradación de la gasolina adulterada a través de la técnica de biorremediación asistida, pues la única transformación que se observó en los cuatro meses de tratamiento fue la reducción del grupo funcional orgánico alqueno a alcohol a los 30 días con los tratamientos planta, hongo y V+H+P+N, así como la de un alcano -CH₃

a un alcano -CH₂ a los 120 días en todos los tratamientos incluido el control negativo.

8.3 Variables respuestas

Con el objetivo de probar que *Pachyphytum bracteosum* es una planta tolerante a los xenobióticos orgánicos: alquenos, alcohol y carbonilos, identificados en los espectros de la gasolina adulterada, se analizaron los resultados de los muestreos destructivos, específicamente: el porcentaje de supervivencia de las plantas en un medio contaminado, biomasa, altura de planta y longitud de raíz, lo que indica, que la planta tiene la capacidad de sobrevivir en parámetros tóxicos, ya que el porcentaje de supervivencia se mantuvo al 100 % durante los cuatro meses de tratamiento, por lo que se puede comprobar que Pachifito (*Pachyphytum bracteosum*), es tolerante a los xenobióticos orgánicos de la gasolina adulterada (Cuadro 6).

Pues a pesar de tener una disminución en las variables biomasa, altura de planta y longitud de raíz por el estrés del trasplante al año y medio duplicaron sus parámetros.

Cuadro 6. Media de las variables a los 30, 60, 90 y 120 días.

DÍAS DE TRATAMIENTO	% DE SUPERVIVENCIA	BIOMASA (g)		ALTURA DE PLANTA (cm)		LONGITUD DE RAÍZ (cm)	
		PLANTA	V+H+P+N	PLANTA	V+H+P+N	PLANTA	V+H+P+N
30	100	143.13	145.96	11.66	13.66	7.00	7.00
60	100	116.30	128.80	11.60	13.00	3.60	5.60
90	100	73.80	165.50	10.83	10.33	2.90	13.83

DÍAS DE TRATAMIENTO	% DE SUPERVIVENCIA	BIOMASA (g)		ALTURA DE PLANTA (cm)		LONGITUD DE RAÍZ (cm)	
		PLANTA	V+H+P+N	PLANTA	V+H+P+N	PLANTA	V+H+P+N
		120	100	93.93	135.30	12.60	13.00

Fuente: Elaboración propia.

Al analizar las medias de los muestreos destructivos se observa una variación entre los parámetros de las variables independientes: biomasa, altura de planta y longitud de raíz en comparación con el porcentaje de supervivencia, con un parámetro constante.

Con el objetivo de determinar las diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó un análisis de varianza con el método de Tukey en el Software SAS. Comparando los tratamientos con el método de Tukey, la condición de V+H+N+P y planta son los únicos significativamente diferente en la variable biomasa, con una desviación estándar (σ) de 29.04 para V+H+N+P y 31.39 para la condición con planta, lo que significa que el tratamiento V+H+N+P, realiza mayor captura de carbono al tener un mayor crecimiento, sin diferencias entre los parámetros de biomasa (Cuadro 7).

Cuadro 7. ANOVA de biomasa con el método de Tukey.

ANOVA	V+H+N+P	PLANTA
MEDIA	143.90	106.79
σ	29.04	31.39
TUKEY	A	B

* Las letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la variable altura las diferencias son mínimas presentando una desviación estándar de 0.82 para el tratamiento V+H+N+P y 1.18 en el tratamiento planta, que en términos de desarrollo es bueno en comparación a los demás tratamientos (Cuadro 8).

Cuadro 8. ANOVA de altura de planta con el método de Tukey.

ANOVA	V+H+N+P	PLANTA
MEDIA	13.4583	11.7082
σ	0.82	1.18
TUKEY	A	B

* Las letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$). Fuente: Elaboración propia.

En relación con el crecimiento de la raíz con base a la desviación estándar, la diferencia también manifiesta que el tratamiento V+H+N+P, favorece el desarrollo radical con mayor tamaño, su desviación estándar es de 2.00, lo que significa que algunas plantas presentaron una longitud de raíz mayor que la media, en comparación con la planta que su desviación estándar es de 1.91 y una media de solo 3.86 (Cuadro 9).

Cuadro 9. ANOVA de longitud de raíz con el método de Tukey.

ANOVA	V+H+N+P	PLANTA
MEDIA	6.8333	3.8667
σ	2.00	1.91
TUKEY	A	B

* Las letras diferentes indican diferencia indicadora ($p < 0.05$). Fuente: Elaboración propia.

Un resultado sorprendente fueron los nuevos brotes en las plantas suculentas y la germinación de tres especies diferentes a los 90 días de tratamiento, únicamente en las condiciones: V+H+P+N, planta y hongo.

Las especies identificadas en el tratamiento hongo y planta fueron las briofitas *Funaria physcomitrium* y *Bryum argenteum*. Y el trébol (*Oxalis spp.*), nabo (*Brassica rapa*), peine de bruja (*Erodium cicutarium*), Quelite (*Amaranthus spp.*) y Sanguinaria (*Polygonum spp.*) (Figura 11) en el tratamiento nutrientes, V+H+P+N y planta.



Figura 11. Especies nuevas que germinaron en los tratamientos de biorremediación asistida.

9. DISCUSIÓN

En función a los resultados de la investigación, se puede determinar que la contaminación por hidrocarburos, se expande considerablemente por capilaridad debido a su nula viscosidad. Lo que complica el proceso de descontaminación, debido a que los hidrocarburos reducen la infiltración, la evaporación y la disponibilidad de oxígeno (Cavazos-Arrollo et al., 2014), obstaculizando la mineralización de los hidrocarburos adulterados con la asociación entre *Trichoderma harzianum* y *Pachyphytum bracteosum*.

Debido a que la textura franco arcillosa en combinación con la gasolina adulterada, reducen las condiciones de óxido reducción, frenando las reacciones biogeoquímicas de biodegradación, porque se acumula el contaminante en los microporos de las arcillas, provocando anegación, cuando el suelo esta húmedo y formando gránulos difíciles de desintegrar ,cuando el suelo está seco, alterando uno de los procesos más importantes en el ciclo de la vida, la germinación de las semillas (Espinoza Estrella, 2021).

Las moléculas identificadas con el infrarrojo IR en la estructura de la gasolina adulterada, corresponden a un hidrocarburo aromático, un derivado sustituido del benceno con grupos funcionales orgánicos o xenobióticos orgánicos no polares, específicamente: alquenos, alcohol y carbonilos, grupos funcionales insolubles en agua, que bajo el tratamiento de ventilación + hongo + planta + nutrientes (V+H+P+N), sustituyó un alqueno por alcohol en 30 días, en comparación con los demás tratamientos y 120 días antes, en comparación con el control negativo. Es decir la bioaumentación asistida confirió cierta polaridad a la estructura química, lo

que le podría brindar una oportunidad para su posible degradación. Dicho de otra manera, no se puede estimar el tiempo y costos de tratamiento que se requiere para su mineralización, debido a que la literatura reporta microensayos, lo que complicó su replicación a escala, además, que los productos comerciales con microorganismos exógenos como el hongo *Trichoderma harzianum*, no tienen el número requerido de unidades formadoras de colonias y las cepas están enfocadas para control biológico. Lo que le toma tiempo al hongo para cambiar su preferencia de consumo, pues está confirmado que tiene la capacidad de transformar los contaminantes del suelo como el petróleo, generando caminos micelares que les permite viajar a lugares inaccesibles como los microporos de las arcillas para su degradación, debido a que son sobrevivientes curtidos de las alteraciones ecológicas, prosperando en periodos de cambios catastróficos (Sheldrake, 2023).

Por otra parte, la investigación demuestra que existen especies tolerantes a los xenobióticos orgánicos de la gasolina adulterada, algo extraordinario, considerando que los hidrocarburos tienen efectos letales en otros organismos, debido a que impiden el intercambio gaseoso con la atmosfera, impidiendo procesos fisicoquímicos simultáneos como la evaporación e infiltración de manera lenta, lo que causa una mayor toxicidad en el suelo (De mesa, 2006).

Con base a los resultados de crecimiento, la especie *Pachyphytum bracteosum* es competente para la biorremediación porque prosperó y completó su ciclo biológico en un ambiente toxico durante 18 meses (Figura 12), con una propagación sexual y asexual, además, de duplicar su tamaño, con una biomasa de 550.6 g, altura 21 cm y longitud de raíz de 19 cm. Debido a su Metabolismo Acido de las Crasuláceas

(CAM acrónimo en inglés), una característica que le confiere grandes ventajas para las zonas áridas o semiáridas y que la hacen una especie competitiva para la biorremediación asistida (Nobel, 1998), que en combinación con la bioaumentación de nutrientes y oxígeno, mejoran la estructura del suelo optimizando las condiciones de la textura, permitiendo la proliferación de plantas pioneras, sobreviviendo y prosperando a xenobióticos de la gasolina adulterada que superan los niveles naturales, cumpliendo la primera ley de la termodinámica, transformando el contaminante en biomasa (Arellano-Leyva, 2016).



Figura 12. Tamaño de *Pachyphytum bracteosum* a los 180 días de tratamiento.

Otro organismo tolerante fueron las briofitas (Figura 13) , que se distinguen por reiniciar su vida metabólica después de 23 años al tener contacto con el agua, ya que tienen la capacidad de tolerar ambientes extremos, lo que les permite una distribución en todo el mundo, favoreciendo la colonización de otras plantas, convirtiéndose en organismos esenciales en la formación de suelo (Delgadillo-Moya, 2022).



Figura 13. Briofitas identificadas que germinaron en los tratamientos de biorremediación asistida.

10. CONCLUSIÓN

En la evaluación de la eficiencia de *Trichoderma harzianum* y *Pachyphytum bracteosum* en la biorremediación asistida de suelos contaminados con gasolina adulterada, se comprueba que, sí existe una diferencia significativa pero no relevante en comparación con las condiciones individuales. Pues el único cambio significativo se confirmó a los 30 días, con el tratamiento que integra: la ventilación + hongo + planta + nutrientes (V+H+P+N), que sustituyo un alqueno por alcohol, con lo cual, se podría mineralizar en el suelo al ser cometabolizado o metabolizado por varios microorganismos, porque al cambiar la polaridad también cambian los sitios de enlace donde pueden atacar los microorganismos, pero se sugiere aumentar el tiempo de tratamiento químico para cambiar el pH, también, se requieren análisis en las plantas para determinar si la gasolina adulterada es almacenada o degradada en un medio ácido como el de las plantas crasuláceas, que tienen un metabolismo CAM.

En cuanto a la comprobación de que *Pachyphytum bracteosum* es una planta tolerante a xenobióticos orgánicos de la gasolina adulterada, los resultados son positivos porque el pachifito sobrevive en un medio que sobre pasa los parámetros máximos permisibles de contaminación de la Norma Oficial Mexicana 138, debido a sus grandes ventajas evolutivas, que le permiten sobrevivir en un medio toxico, evitando su acenso en la cadena trófica, por ser una especie ornamental, con bajos costos de mantenimiento y que debería ser impulsada para su propagación legal, por ser una especie endémica del estado de Hidalgo.

11. LITERATURA

ACOSTA PEÑALOZA GLORIA STELLA. (2022). Procesos microbianos de eliminación de contaminantes en biorremediación. (1ª edición). Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Editorial Ud.

ADMINISTRACIÓN DE CUAUTEPEC DE HINOJOSA. (2020). *Plan Municipal de Desarrollo Cuautepec de Hinojosa 2020-2024.pdf*. Estado de Hidalgo. http://planestataldedesarrollo.hidalgo.gob.mx/pdf/PMD/2020-2024/PMD_CuautepecdeHinojosa2020-2024.pdf

ALANYA DE LA CRUZ, V., & CLEMENTE HUAMÁN, O. (2022). Uso de estiércol bovino y aserrín de polylepis para la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos de petróleo en la ciudad de Huancavelica, 2022. Tesis. Universidad Nacional de Huancavelica.

ÁLVAREZ DE LA BORDA, J. (2006). *Crónica del petróleo en México de 1863 a nuestros días*. PEMEX. https://www.pemex.com/acerca/archivo-historico/Documents/publicaciones/cronica_petroleo_mexico.pdf

ARELLANO-LEYVA, E., HERNÁNDEZ-QUIRÓZ, M., HUERTA-GUZMÁN, R. G., & COLLAZO-ORTEGA, M. (2016). Extensive Green Roofs as a Means to Capture Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 37(4), 280–291. <https://doi.org/10.1080/10406638.2015.1105827>

ARGUMEDO DELIRA, R., ALARCÓN, A., FERRERA CERRATO, R., Y PEÑA CABRIALES, J. J. (2009). El género fúngico *Trichoderma* y su relación con los

contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 25(4), 257-269.

BARRÁN-BERDÓN, A. L., GONZÁLEZ, V. G., ABOYTES, G. P., RODEA-PALOMARES, I., CARRILLO-CHÁVEZ, A., GÓMEZ-RUIZ, H., Y CUÉLLAR, B. V. (2012). Hidrocarburos aromáticos policíclicos en una localidad manufacturera de ladrillos en el centro de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 28(4), 277-288.

BIOADVISER EDUCACIÓN. (2020). Taller “Tecnologías de la remediación”. (Online). Disponible en: <<https://www.bioadviser.com.mx/>>. [Consultado el 6 de marzo del 2022].

BRUTTI LUCRECIA, BELTRÁN MARCELO Y GARCÍA DE SIMONE INÉS. (2018). Biorremediación de los recursos naturales. 1ª edición, Hurlingham, Buenos Aires. Editorial INTA.

CASTELLANOS MALO, J. S. (1999). *Química orgánica*. McGRAW-HILL Interamericana Editores.

CASTILLO, F. (2005). *Biotecnología ambiental*. Editorial Tebar, Madrid, España.

CAVAZOS-ARROYO, J., PÉREZ-ARMENDÁRIZ, B., Y MAURICIO-GUTIÉRREZ, A. (2014). Afectaciones y consecuencias de los derrames de hidrocarburos en suelos agrícolas de Acatzingo, Puebla, México. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 11(4), 539-550.

CHAVARRÍA HERNÁNDEZ, J. (2019). Efectos de los hidrocarburos en las propiedades del suelo. (Online). Disponible en:

<<http://repositorio.iberopuebla.mx/handle/20.500.11777/4385>>. [Consultada 5 de abril del 2022].

COMISIÓN NACIONAL FORESTAL. (2005). Manual práctico “Conservación y restauración de cactáceas y otras plantas suculentas mexicanas”. (Online). Disponible en: <https://www.conafor.gob.mx/biblioteca/Manual_PracticoConservacionyrestauracion-cactaceas_suculentas.pdf>. [Consultado 25 de abril del 2022].

CONABIO. (2021). La biodiversidad en Hidalgo estudio de estado. Primera edición. Disponible es: <<https://bioteca.biodiversidad.gob.mx/janium/Documentos/15852.pdf>>.

DE MEDEIROS, F. H. V., GUIMARÃES, R. A., DA SILVA, J. C. P., CRUZ-MAGALHÃES, V., & DE SOUZA, J. T. (2019). Trichoderma: interações e estratégias. *Trichoderma*, 219.

DE MESA, J. B. L., QUINTERO, G., VIZCAÍNO, A. L. G., CÁCERES, D. C. J., RIAÑO, S. M. G., Y GARCÍA, J. M. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, 4(5), 82-90.

DELGADILLO-LÓPEZ, A. E., GONZÁLEZ-RAMÍREZ, C. A., PRIETO-GARCÍA, F., VILLAGÓMEZ-IBARRA, J. R., Y ACEVEDO-SANDOVAL, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(2), 597-612.

DELGADILLO-MOYA C., ESCOLÁSTICO D. A., HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ E., HERRERA-PANIAGUA P., PEÑA-RETES P. Y JUÁREZ-MARTÍNEZ C. (2022).

Manual de briofitas. Instituto de biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: < <https://www.ib.unam.mx/ibunam/Manual-Briofitas.pdf>>.

ESPINOZA, E. (2021). Efecto del vermicompost en la biomasa de *Hordeum vulgare* L. (cebada) cultivado en un suelo contaminado con hidrocarburos de un taller mecánico. Tesis. Universidad Continental, Huancayo, Perú.

ESQUINCA CANSECO, C. A. (2016). *Capacidad de la fitoextracción de plomo, cromo y cadmio empleando paulonia imperial, Paulownia tomentosa, y succulenta, Dudleya gatesii.* Tesis. Universidad Autónoma Metropolitana.

FLORES PUENTE, M. A., TORRAS ORTIZ, S., Y TÉLLEZ GUTIÉRREZ, R. (2004). *Medidas de mitigación para uso de suelos contaminados por derrames de hidrocarburos en infraestructura de transporte terrestre.* Infraestructura del Instituto Mexicano del Transporte. <https://www.imt.mx/archivos/Publicaciones/PublicacionTecnica/pt257.pdf>. [Consultada 2021].

GUZMÁN GUERRERO, A. (2021). Fitorremediación de suelos contaminados con arsénico, cobre y plomo empleando *Echeveria elegans* y *Crassula ovata*. Tesis, Universidad Autónoma Metropolitana. DOI: 10.24275/uama.6734.8738.

HERNÁNDEZ ACOSTA, E., ALVARADO LÓPEZ, J., Y RUBIÑOS PANTA, J. E. (2004). *Restauración de suelos contaminados con hidrocarburos: conceptos básicos.* Colegio de Postgraduados.

INEGI. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010, Cuauhtepic de Hinojosa, Hidalgo. Consultada en línea: <

https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/13/13016.pdf>.

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS. (2020). *Fitorremediación para suelos sanos y productivos libres de contaminantes.* Gobierno de México. (Online). Disponible en: <<https://www.gob.mx/inifap/articulos/fitorremediacion-para-suelos-sanos-y-productivos-libres-de-contaminantes?idiom=es>>. [Consultada 1 de febrero del 2022].

ITURBE A. R. (2010). ¿Qué es la biorremediación? Universidad Nacional Autónoma de México. Dirección general de divulgación de la ciencia. Primera edición.

JUÁREZ, L. D. T. (2020). Evaluación de tres hongos con potencial de biorremediación de gasolina magna en presencia de un polvo sorbente oleofílico. Tesis, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

LÓPEZ DE RIVERA HINOJOSA N. L. (2019). Noticieros televisa “Agua de Cuauhtepec de Hinojosa, contaminada por el huachicol; emiten alerta de riesgo”. (Online). Disponible en: <<https://noticieros.televisa.com/ultimas-noticias/agua-cuauhtepec-hinojosa-contaminada-huachicol-emiten-alerta-riesgo/>>, [Consultada el 4 de abril de 2022].

MARÍN VÁZQUEZ, C. L. (2020). Risorremediación de suelos agrícolas contaminados con diésel de la zona de Acatzingo, Puebla. Tesis de licenciatura. Benemérita Universidad de Puebla. Ingeniería ambiental.

MARRERO-COTO, J., AMORES-SÁNCHEZ, I., Y 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), 52-61.

MARTÍNEZ SEPÚLVEDA, J. A., SÁNCHEZ YÁÑEZ, J. M., VOLKE SEPÚLVEDA, T.,

VALLEJO QUINTERO, V. E., PÉREZ JUNCO, L. M., DUARTE BAUTISTA, P.

A., Y REINALDO CASALLAS, M. (2021). Remediación de suelos contaminados:

fundamentos y casos de estudio. 1° Edición. Universidad EAN. Bogotá, Colombia.

MASTANDREA, C., CHICHIZOLA, C., LUDUEÑA, B., SÁNCHEZ, H., ÁLVAREZ, H., Y

GUTIÉRREZ, A. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la

salud y marcadores biológicos. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 39(1),

27-36.

MONTGOMERY D. C. (2007). Diseño y análisis de experimentos. Editorial Iberoamérica.

Arizona State University.

MORALES-BAUTISTA, C. M., LOBATO-GARCÍA, C. E., FLORES-JIMÉNEZ, J., &

MENDEZ-OLÁN, C. (2019). Cambios en las propiedades físicas y químicas de un

suelo debido a un proceso de restauración aplicado a un derrame de

hidrocarburos. *Acta Universitaria* 29, e2154. doi.

<http://doi.org/10.15174.au.2019.2154>.

MUKHERJEE, P. K., HORWITZ, B. A., SINGH, U. S., MALA MUKHERJEE, M. M., Y

SCHMOLL, M. (EDS.). (2013). *Trichoderma: biology and applications*. CABI.

Editorial Emma McCann.

NOBEL, P. S. (1998). Los incomparables agaves y cactus. 1° Edición. Editorial Trillas.

OJEDA-MORALES, M. E., CÓRDOVABAUTISTA, Y., ÁLVAREZ-RAMÍREZ, J. G., LÓPEZ-LÁZARO, J. S., MARTÍNEZ-PEREYRA, G., & MORALES-BAUTISTA, C. M. (2023). Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos empleando sustancias húmicas de vermicomposta. *Terra Latinoamericana*, 41, 1-18. e1656. <https://doi.org/10.28940/terra.v41i0.1656>

ORDOÑEZ, CAMILO. (2020). Uso de espectroscopia infrarroja en la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos. Un caso de estudio en la provincia de La Pampa. Universidad Nacional de la Pampa. Repositorio digital de acceso abierto. Disponible en: <<https://repo.unlpam.edu.ar/handle/unlpam/7392>>.

PEMEX. (2018). Hoja de datos de seguridad. Gasolina Pemex premium y Pemex magna. Número Versión 1.0. Disponible en: <<https://www.distribuidorariopanuco.com/pdfs/magna.pdf>>.

PESÁNTEZ, M., Y CASTRO, R. (2016). Potencial de cepas de *Trichoderma* spp. Para la biorremediación de suelos contaminados con petróleo. *Biotecnología Vegetal*, 16(4), Article 4. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/541>.

PONCE P. P., Escobedo B., González L., Lara C. y Núñez R. (2023). Espectroscopía de infrarrojo: Análisis e interpretación de compuestos. Universidad Juárez del Estado de Durango.

PORTA CASANELLAS, J., LOPEZ-ACEVEDO REGUERIN, M., & POCH CLARET, R. M. (2019). *Edafología: Uso y protección de suelos*. Ediciones Mundi-Prensa.

PROFEPA, (2019). Estudio de suelo realizado por PROFEPA determina altos niveles de contaminación y daños irreversibles en Tlahuelilpan, Hidalgo. gob.mx. Recuperado el 17 de agosto de 2023, de <http://www.gob.mx/profepa/prensa/estudio-de-suelo-realizado-por-profepa-determina-altos-niveles-de-contaminacion-y-danos-irreversibles-en-tlahuelilpan-hidalgo>.

RAMÍREZ RÍOS, A., & POLACK PEÑA, A. M. . (2020). Estadística inferencial. Elección de una prueba estadística no paramétrica en investigación científica. <https://doi.org/10.26490/uncp.horizonteciencia.2020.19.597>

REAL ACADEMIA ESPAÑOLA (2023). *Definición de huachicol—Diccionario panhispánico del español jurídico—RAE.* Diccionario panhispánico del español jurídico - Real Academia Española. Recuperado el 21 de agosto de 2023, de <https://dpej.rae.es/lema/huachicol>.

RINCÓN, M. C. (2004). Estudio de la biorremediación como una alternativa en la mitigación de la contaminación ambiental. (Tesis de especialización). Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander.

ROJAS, E. H. G. (2011). Concepto y estrategias de biorremediación. *INGE@ UAN-TENDENCIAS EN LA INGENIERÍA*, 1(2). (Online). Disponible en:< <https://revistas.uan.edu.co/index.php/ingean/article/view/208>>. [Consultada 5 de abril del 2022].

SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES. (2022). *Cuarto Informe de Labores 2021- 2022.* gob.mx. Recuperado el 4 de noviembre de 2023,

de <http://www.gob.mx/semarnat/documentos/cuarto-informe-de-labores-2021-2022-313269?state=published>

SEVERIANO, (2022). “Rizorremediación en suelo contaminado con petróleo crudo utilizando nopal verdura (*Opuntia* spp.)-*Azospirillum* spp.”. Facultad de Ingeniería Química Colegio de Ingeniería Ambiental. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

SHELDRAKE, MERLIN. (2023). La red oculta de la vida. (2 a ed.). Editorial Planeta.

VALENZUELA, I., GALINDO, L., MANTILLA, D., MONCADA, D. S., ORJUELA, E., ROMANO, K., & RINCÓN, J. (2021). Técnicas de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos con fines de uso en el municipio de Tibú, norte de Santander. *Suelos Ecuatoriales*, 51(1), 107-118. DOI: 10.47864/SE(51)2021p107-118_136.

WOO, S. L., HERMOSA, R., LORITO, M., & MONTE, E. (2023). Trichoderma: A multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*, 21(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00819-5>.

ZIMICZ, C. C. (2016). *Las plantas y su capacidad para remediar sitios contaminados*. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/48535>.

ANEXOS



7 DE NOVIEMBRE DE 2023.
No. DE OFICIO:193

USUARIO: **ANA LAURA HERNÁNDEZ**
PROCEDENCIA: EL ASERRADERO, HGO.
TIPO DE MUESTRA: **SUELO (1 MUESTRA)**

Nº CONTROL	pH	N Tot. %	P mg kg ⁻¹	K mg kg ⁻¹
1418	7.54	0.19	83.84	956

Nº CONTROL	Ca mg kg ⁻¹	SO ₄ me L ⁻¹	C.C. %	P. DE SATURACIÓN %
1418	2499	0.2	28.78	49.19

METODOLOGIA:

pH: POTENCIOMETRICO, RELACION SUELO-AGUA, 1:2.

NITROGENO TOTAL (N tot.): DIGESTADO CON MEZCLA DIACIDA Y DETERMINADO POR ARRASTRE DE VAPOR.

FOSFORO ASIMILABLE (P): OLSEN.

POTASIO (K): EXTRAIDO EN ACETATO DE AMONIO 1.0 N, pH 7.0, RELACIÓN 1:20 Y DETERMINADO POR ESPECTROFOTOMETRIA DE EMISIÓN DE FLAMA.

CALCIO (Ca): EXTRAIDO CON ACETATO DE AMONIO 1.0 N, pH 7.0, RELACIÓN 1:20 Y DETERMINADO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.

AZUFRE (SO₄): DETERMINADO POR FOTOCOLORIMETRIA DE CLORURO DE BARIO EN EL EXTRACTO DE LA PASTA.

CAPACIDAD DE CAMPO (C. C.): OLLA DE PRESIÓN A 0.3 Atm.

% DE PUNTO DE SATURACIÓN (Pto. Sa.): DETERMINADO POR GRAVIMETRÍA

IDENTIFICACION:

1418: SIN DATOS DE LA MUESTRA.

ATENTAMENTE.

Arturo Jiménez López
ING. ARTURO JIMÉNEZ LÓPEZ

JEFE DEL LABORATORIO CENTRAL UNIVERSITARIO

BI

AJL *ayjimenez*

Figura 14. Resultados del análisis de suelo realizados en CHAPINGO.