

Fitorremediación en suelo agrícola contaminado con plomo empleando Pasto Ryegrass Anual (*Lolium multiflorum*)

Phytoremediation in lead-contaminated agricultural soil using Annual Ryegrass (*Lolium multiflorum*)

Patricia Jaramillo Navarro¹, Brenda Haro Salazar¹, Ayleen Villacrés Moya¹
Edwin Casa Correa¹, Alicia del Carmen Guevara¹

¹ Escuela Politécnica Nacional. Quito – Ecuador. E-mail: ernestrodelatorre@epn.edu.ec,
lucia.manangon@epn.edu.ec, carlos.aragont@epn.edu.ec, diana.endara@epn.edu.ec,
eddy.pazmino@epn.edu.ec

ISSN: 2661-6998

Fecha de recepción: 18-10-2023

Fecha de aceptación: 12-04-2024

Resumen

La contaminación de suelos agrícolas por metales pesados como el plomo (Pb), debido al asentamiento de industrias en zonas aledañas a cultivos, como acerías, metalmecánicas, textileras, entre otras, es una problemática en Ecuador. Una alternativa escasamente investigada en el país es la fitorremediación, un método amigable con el medio ambiente, eficiente y menos costoso que otras técnicas. El presente estudio busca evaluar la capacidad de depuración de plomo en soluciones sintéticas y suelo agrícola contaminados, empleando pasto Ryegrass anual (*Lolium multiflorum*), que se caracteriza por tener alto potencial de rendimiento y capacidad de establecerse rápidamente. La remoción de plomo en el sistema agua-planta, empleando soluciones sintéticas de 5 mg.L⁻¹ de Pb después de 5 días de tratamiento fue del 87,9 %. Mientras que en el sistema agua-planta-suelo, empleando suelo agrícola proveniente de la zona de Machachi (provincia Pichincha) contaminado con plomo en una concentración de 200 mg.Kg⁻¹ por un periodo de 7 semanas se obtuvo una remoción de 55,3 % e índices de mortalidad y marchitamiento de la planta inferiores al 5 %. En ambos casos, después del

tratamiento se obtienen concentraciones de Pb inferiores a 0,5 mg.L⁻¹ valor límite máximo de plomo permisible para descargas al sistema de alcantarillado público definido por la norma TULSMA; en el caso de suelos agrícolas el valor permisible máximo de Pb es 100 mg.Kg⁻¹ según el criterio de restauración de suelos.

Palabras clave: Ryegrass anual, fitorremediación, plomo, contaminación de suelo agrícola, fitorremediación.

Abstract

The contamination of agricultural soils by heavy metals such as lead (Pb) poses a significant issue in Ecuador due to the proximity of industrial activities, such as steel mills, the metalworking industry, textile industry, to croplands. An underexplored alternative in the country is phytoremediation, which is an environmentally friendly, efficient, and cost-effective method. This study aims to assess the lead remediation capacity in synthetic solutions and contaminated agricultural soil using annual Ryegrass (*Lolium multiflorum*), which is a high-yield and adaptable grass. The removal of lead from the water-plant system, using synthetic solutions with 5 mg.L⁻¹ of Pb after a 5-day treatment, reached 87,9%. Meanwhile, in the water-plant-soil system, employing agricultural soil from the Machachi area (Pichincha province) contaminated with 200 mg Kg⁻¹ of lead achieved removal of 55,3% over a 7-week treatment, with plant mortality and withering rates below 5%. In both cases, post-treatment lead concentrations were below 0.5 mg.L⁻¹, which is the maximum permissible limit for lead discharge into the public sewer system defined by the TULSMA standard (Ecuadorian legislation). For agricultural soils, the maximum permissible Pb content is 100 mg.Kg⁻¹, as per soil restoration criteria.

Keywords: Annual ryegrass, phytoremediation, lead, agricultural soil contamination, phytoremediation.

1. INTRODUCCIÓN

El suelo es un recurso fundamental para la producción de alimentos en el mundo. Considerando que, de acuerdo con las proyecciones realizadas por [1], la población mundial para el año 2050 habrá pasado de 7 700 millones a 9 700 millones, la situación es preocupante, dado que apenas el 10,8 % de la superficie de la tierra corresponde a suelos cultivables. En este escenario, es importante no solo la preservación del suelo para la producción agrícola, destinado a la alimentación de una población que aumenta, sino también la recuperación de suelos contaminados por la actividad industrial.

Actualmente, existen diferentes técnicas para la remediación de suelos contaminados por la actividad industrial, las mismas son clasificadas en tres grupos:

- a) Técnicas físicas, enfocadas a la reposición, aislamiento y vitrificación del suelo [2].
- b) Técnicas químicas, tales como solidificación, estabilización y lavado de suelos [3].

- c) Técnicas biológicas como bioabsorción y absorción mediante microorganismos y plantas, conocidas como fitorremediación [4].

La fitorremediación aprovecha la tendencia que tienen diversos metales pesados a acumularse en distintas zonas de las plantas [5]. Esta técnica biológica se basa en el uso de plantas y microorganismos del suelo para remover, reducir, transformar, mineralizar, degradar, volatilizar o estabilizar diferentes tipos de contaminantes, además, se percibe como rentable, eficiente, novedosa, ecológica y con buena aceptación del público [6].

La respuesta fisiológica de las plantas empleadas en fitorremediación, al ser expuestas a metales pesados, se clasifican en tres tipos:

- a) excluyentes (acumulan metales en tallo y hojas, en menor concentración que en los suelos).
- b) indicadoras (acumulan metales en el tejido aéreo en relación lineal respecto a la concentración de metales en el suelo).
- c) acumuladoras (concentración de metales en su parte aérea -tallo y hojas- es mayor que los metales presentes en el suelo).

Las especies que tienen una gran capacidad para acumular metales pesados son denominadas hiperacumuladoras [6], [7].

Existe una amplia variedad de contaminantes que se pueden tratar por fitorremediación, sin embargo, los metales pesados representan un desafío particular debido a que no son biodegradables, por lo que se acumulan en el ambiente y posteriormente pueden contaminar la cadena alimentaria. Esta contaminación representa un riesgo para la salud humana y ambiental [8]. Los metales pesados corresponden a elementos metálicos con una densidad por encima de 5 g.cm⁻³. Metales como hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn), cobalto (Co), entre otros, son esenciales para los organismos vivos. Pero, existen metales que no cumplen ninguna función biológica específica, al contrario, son altamente nocivos como el cadmio (Cd), mercurio (Hg), arsénico (As) o plomo (Pb) [9].

Si bien, los metales pesados existen naturalmente en los suelos, estos pueden convertirse en contaminantes, al acumularse debido a actividades geológicas y principalmente antropogénicas [10].

En la Tabla 1 se detallan rangos normales de concentración de metales en plantas, animales e incluso en el agua de lluvia que se encuentra constantemente en interacción con los suelos [11]. Los valores que excedan los rangos normales se consideran como

nocivos, dependiendo de los niveles permisibles estipulados en la normativa ambiental de cada país

Tabla 1: Concentración natural de metales pesados en distintos medios.

Elemento	Plantas mg Kg ⁻¹	Mamíferos mg Kg ⁻¹	Peces mg Kg ⁻¹	Lluvia µg l ⁻¹
Ag	0.01-0.8	0.01-0.44	0.04-0.1	0.006
Al	90-530	0.7-28	20	2.1-105
As	0.2-7	<1.6	0.2-10	-
Cd	0.1-2.4	0.1-3.2	0.1-3	0.02-0.06
Co	<1	<1	0.02	0.17-0.95
Cr	0.03-10	0.01-33	0.03-2	-
Cu	5-15	1-26	0.7-1.5	0.01-15
Fe	70-700	3-380	1-15	0.4-84
Hg	<0.02	0.02-0.7	0.4	-
Mn	20-700	0.2-14	0.3-4.6	-
Mo	0.06-3	0.02-0.7	1	0.01-12
Ni	1-5	0.7-1.2	0.1-4	-
Pb	1-13	0.2-30	0.01-2	-
Se	0.03	0.4-9	0.2	0.01-0.77
Sn	0.02-2	0.01-2	-	<0.01
Zn	20-400	75-240	10	0.05-100

Tomada de [11].

Los metales pesados se pueden encontrar en el suelo, tanto en su forma elemental como en forma de cationes (M⁺), por lo cual, el pH pasa a ser un factor de vital importancia dado que de este valor depende la técnica de fitorremediación seleccionada [12]. La biodisponibilidad corresponde a la proporción y velocidad de absorción de un elemento o sustancia. Si la biodisponibilidad de los metales pesados disminuye, existe el riesgo de ser absorbidos por plantas destinadas al consumo humano [13].

En la Tabla 2 se observan las asociaciones geoquímicas del suelo respecto a sus valores de pH y cómo inciden en la movilidad de metales, tanto en forma elemental como en forma de cationes, siendo esta última la más abundante.

Tabla 2: Movilidad de metales pesados en función del pH

Asociaciones geoquímicas en suelos	Movilidad de los metales		
	Prácticamente inmóviles	Moderadamente móviles	Fácilmente móviles
Ácido (pH<5,5)	Mo	Pb ²⁺ , Cr ³⁺ , Ni ²⁻³⁺	Sr, Ba, Cu, Zn, Cd, Hg

Neutro o débilmente ácido (pH 5,5-7,5)	Pb	Sr, Ba, Cu, Cd, Cr ³⁻⁶⁺ , Co ²⁻³⁺ , Mo ⁴⁺	Zn, V ⁵⁺ , As ⁵⁺
Alcalino o fuertemente alcalino (pH 7,5-9,5)	Pb, Ba, Co	Zn, Ag, Sr, Cu, Cd	Mo ⁵⁺ , V ⁵⁺ , As ⁵⁺

Tomado de [13].

La movilidad de los metales en forma de cationes se debe a que las principales fuentes de contaminación de suelos son efluentes líquidos. Conforme a la actividad de la empresa de donde provengan dichos efluentes, estos pueden contener: soluciones de sales covalentes, soluciones ácidas, soluciones básicas, solventes orgánicas, etc. Los efluentes líquidos entran en contacto con el suelo y se evaporan, lo que provoca que los componentes no volátiles se acumulen [14].

La ruta de absorción de sustancias químicas de las plantas, en un sistema acuoso rico en iones y compuestos solubles, es a través de la raíz [15]. Los iones y compuestos orgánicos son absorbidos por las raíces, ya sea en el suelo o el agua y, posteriormente, pasan al resto de la planta [16].

Ciertas plantas, como el tabaco (*Nicotiana tabacum*), los girasoles (*Helianthus annuus*), los álamos (*Populus spp*), entre otros, tienen la capacidad para metabolizar o acumular compuestos orgánicos como el 1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano (DDT), tricloroetileno (TCE), 2,4-diclorofenol, PCB's, explosivos como el trinitrotolueno (TNT) o dinitrotolueno, PAH's y detergentes [6], [17]. También se debe considerar que de acuerdo con [18]: los microorganismos que habitan en la rizósfera desempeñan un papel muy importante en la degradación de la materia orgánica ya que los metabolitos generados de esta degradación son absorbidos por las plantas junto con el nitrógeno, fósforo y otros minerales.

El sistema radicular fibroso de plantas empleadas en fitorremediación se caracteriza por una gran superficie y por una intensa penetración en el suelo [19].

Los organismos vegetales degradan los compuestos alifáticos fácilmente mediante oxidaciones sucesivas, cuando se incluyen como sustituyentes alcanos de cadena larga, se forman estructuras ramificadas inaccesibles a la degradación, al igual que los

compuestos aromáticos o cíclicos se degradan a partir de la ruptura del anillo bencénico [20].

Este tipo de reacciones de degradación, se aplicarían también a los compuestos orgánicos de metales pesados, como el Metilmercurio (MeHg), altamente tóxico para los seres vivos. Una molécula xenobiótica es un compuesto químico altamente nocivo para los seres vivos cuya presencia o producción no es natural por parte del organismo como el Metilmercurio [21]. La bioacumulación de metales pesados en las plantas implica que estos pasan por varias reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis enzimáticas para obtener compuestos más estables que serán atrapados en organelos como vacuolas [22]. Bajo esta premisa [23] han identificado tres etapas para la transformación de moléculas orgánicas xenobióticas en plantas:

Etapa I. Se producen reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis donde las moléculas orgánicas xenobióticas pierden parte de su estructura, formando metabolitos polares e hidrosolubles. La reacción principal que se genera es la hidroxilación catalizada por monooxigenasas [24].

Etapa II. Se denomina la etapa de conjugación, los mecanismos de desintoxicación actúan uniendo carbohidratos, péptidos, aminoácidos y proteínas a un contaminante. Comúnmente las enzimas involucradas en este proceso se conocen como las transferasas, la toxicidad del contaminante disminuye porque la fitoacumulación incrementa la hidrofobicidad de los contaminantes, promoviendo su depósito en vacuolas, que pueden ser fácilmente sometidos a oxidaciones posteriores [25].

En la Figura 1 se observan ejemplos de la Etapa I y II aplicada a una epoxidación llevada a cabo en el retículo endoplasmático.

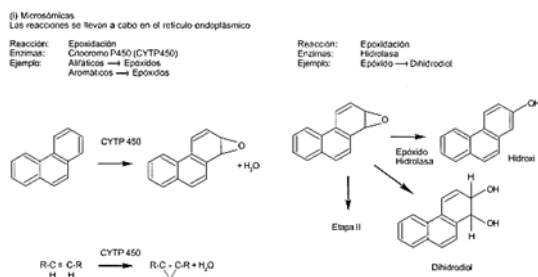


Figura 1: Epoxidación llevada a cabo en el retículo endoplasmático [23].

Etapa III. En esta etapa la polaridad de las moléculas contaminantes incrementa de tal modo que terminan siendo encapsuladas por las vacuolas. En algunos casos la adaptación de la planta a la presencia del

contaminante implica la inducción de enzimas desintoxicadoras como: alcohol deshidrogenasas, fenoloxidasas, peroxidasas, entre otras [22].

En la Figura 2 se muestra un ejemplo de la Etapa III aplicada al óxido-reducción de alcoholes en el Citosol.

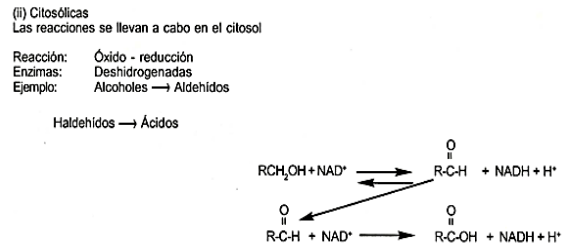


Figura 2: Óxido-reducción de alcoholes en el citosol [23].

[26] sostiene que: ciertos metales al ser absorbidos se combinan como un compuesto menos tóxico, para lograrlo la estructura celular utiliza moléculas ricas en cisteína como el glutatión, fitoquelatinas y metalotioneínas. Esta vía de estabilización se observa en metales pesados como el arsénico, plomo y antimonio.

En la Figura 3 se muestra una representación gráfica de la absorción y acumulación de arsénico presente en suelo en forma de cationes (As^{+5}) y (As^{+3}). Este mecanismo se da gracias a que la rizodermis (capa externa que recubre a las raíces) posee cargas negativas en sus células [9].

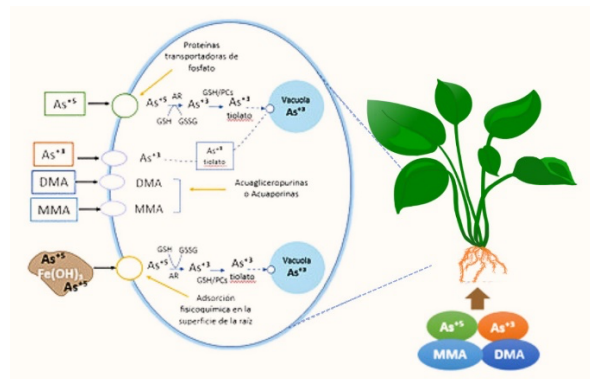


Figura 3. Ruta de fijación de Arsénico en plantas

Este estudio se enfocará en el plomo, el cual es un metal pesado que carece de valor biológico, por su tamaño y carga puede sustituir al calcio acumulándose en los tejidos óseos [27]. La absorción de este provoca acumulación en las plantas, lo que desencadena algunos procesos enzimáticos que pueden introducirse en la cadena alimenticia [28].

[29] Ha demostrado que el deterioro de suelos por Pb se debe a la disminución de nutrientes y con ello se

dificulta el movimiento de la carga microbiana, afectando de manera directa a los cultivos. No obstante, no todo el plomo del suelo muestra igual grado de actividad o de disponibilidad, ya que la disposición química del plomo depende de factores como: el pH del suelo, mineralogía, estructura, materia orgánica y el origen de los compuestos de plomo contaminantes [30].

En Ecuador, [31] reporta que, en zonas influenciadas por la actividad minera para recuperación de oro, desarrollada en las provincias El Oro y Zamora Chinchipe, el límite del plomo según el Codex Alimentarius se excede en muestras de plátano, yuca y tomate. [32] En muestras de cultivo de café reportó la presencia de plomo en concentraciones de 8,70 mg.Kg⁻¹, en tanto que, [33] da cuenta de que en zonas aledañas a la actividad petrolera de la provincia de Orellana la concentración de Pb en suelo a 20 cm de profundidad fue de 0,0169 mg.Kg⁻¹. [34] También reporta la concentración de plomo de 78,224 mg.Kg⁻¹ en suelo de zonas aledañas al parque industrial de la ciudad de Cuenca, provincia de Azuay. Es así como, a pesar de no tener un monitoreo a nivel nacional del plomo, con los estudios que existen al respecto, se conoce que hay presencia de plomo en suelos cultivables y en cultivos.

La contaminación por plomo en suelos agrícolas se relaciona por la cercanía a zonas industriales, zonas de procesamiento de minerales y a la presencia de contaminantes atmosféricos que contienen metales pesados que progresivamente se depositan en el suelo [35].

A pesar de la importancia de la preservación y recuperación de suelos agrícolas en Ecuador, hay pocos estudios referidos a uso de fitorremediación en el tratamiento de estos. No obstante, se tiene que, se trabajó en la remoción de arsénico por fitorremediación de dos suelos [36], el primero provenía de una zona aledaña a una planta de beneficio de mineral, ubicada en la provincia de Azuay, cantón Camilo Ponce Enríquez, y el otro suelo proveniente de una zona volcánica en Tungurahua. Para la remoción del suelo, se emplearon las especies llantén menor, pasto azul y pasto anual. Por otro lado, [28] evaluaron la capacidad de absorción de plomo en suelos contaminados con este elemento, usando tres especies: amaranto, acelga y alfalfa.

La ciudad de Machachi en la provincia de Pichincha es una ciudad eminentemente agrícola. Sin embargo, actualmente se ha reducido el territorio dedicado a la producción de alimentos, debido al asentamiento de varias industrias como acerías (ADELCA, Acero de los Andes), metalmecánicas y de equipos

(Submarinista, Fanedox), textiles, transporte pesado, entre otras, además de la construcción de amplias carreteras. El suelo con el que se trabajó en la presente investigación se obtuvo del barrio Güitig, en la parroquia de Machachi.

Por otra parte, se empleó el pasto ryegrass, especie ampliamente distribuida por todo el mundo. Se usa en muchos entornos cuando es necesaria la cubierta rápida del suelo. Se caracteriza por tener alto potencial de rendimiento, se establece rápidamente, se puede emplear en suelos arcillosos y anegados [37], [38].

Es una de las especies forrajeras de mayor interés en la región interandina de Ecuador ya que las condiciones climáticas más adecuadas para su desarrollo se dan en el callejón interandino en altitudes de 2 500 a 3 200 msnm, con temperaturas de 11 a 18 °C [39]. Sus hojas se caracterizan por tener un ancho de 4 mm a 10 mm y de 6 cm a 20 cm de largo. [40] reporta que la producción de biomasa promedio por ciclo para este pasto es de 3395 Kg.ha⁻¹ MS (materia seca).

Existen estudios sobre el efecto en la diversidad microbiana y la capacidad de remoción de hidrocarburos y metales como zinc y cadmio en suelos contaminados, dado por el pasto ryegrass [19], [41], [42], [43].

Otro método para analizar fitorremediación es la hidroponía, en donde la solución nutritiva contiene los macro y micronutrientes necesarios para el desarrollo de plantas sin la necesidad de que estas sean plantadas en el suelo, en su defecto, se utilizan sustratos que sean capaces de retener humedad, como la fibra de coco o algunos tipos de piedra porosa [44]. Sin embargo, este método de crecimiento debe tratarse con cuidado. [45] establece que las plantas desarrolladas en medios hidropónicos y expuestas a la solución nutritiva durante tiempos prolongados son susceptibles a varias fito-plagas como pulgón, además de putrefacción en bulbos y raíces.

Se debe tener en cuenta que la fitorremediación tiene limitantes como la dependencia al crecimiento de biomasa, que puede ser poca y lenta [46].

En el presente trabajo se evaluó la capacidad del pasto ryegrass (*Lolium multiflorum*), para remover por fitorremediación plomo en soluciones sintéticas empleando un sistema sencillo (agua – planta), así como en suelo agrícola proveniente de Machachi (provincia Pichincha) mediante un sistema (agua – suelo -planta).

2. METODOLOGÍA

2.1. Desarrollo de pasto ryegrass anual (*Lolium multiflorum*) por medios hidropónicos, en contacto con solución nutritiva.

La germinación del pasto ryegrass anual se realizó en sustrato de coco inerte [47]. Para garantizar el apropiado desarrollo de las plantas se midió el pH del sustrato, el cual debe oscilar entre 5,5 y 6,5. Una vez desaglomerado se colocó en una bandeja de germinación de 200 alveolos. En cada alveolo se colocaron 3 semillas de ryegrass a una profundidad igual a 3 veces el tamaño de la propia semilla [48].

Durante los primeros 30 días se tomó datos relacionados al crecimiento de las plántulas como el tamaño de raíz y el número de hojas. Transcurrido este tiempo las plántulas fueron trasplantadas en las canastillas hidropónicas para completar su desarrollo en contacto con la solución nutritiva (Figura 4), dicha solución nutritiva fue previamente calculada, como se muestra en la Tabla 3, y suministrada durante 15 días [49].

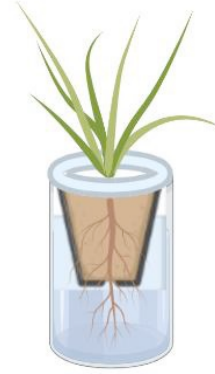


Figura 4: Esquema del sistema hidropónico utilizado.

Una vez transcurridos los 15 días se midieron el tamaño de la raíz y las hojas, así mismo, se estableció el porcentaje de mortalidad en este proceso con el fin de evaluar la tasa de adaptación de las plantas al medio hidropónico y establecer la capacidad de adaptación de dichas plantas al proceso de fitorremediación.

2.2. Evaluación de la capacidad de absorción de plomo del pasto ryegrass anual en una solución sintética de plomo (5 mg.L⁻¹) para su depuración.

Previo a exponer las plantas a suelos contaminados se evaluó la capacidad de remoción de plomo en un sistema sencillo (agua-planta). Para esta etapa del proceso se tomaron 20 plantas desarrolladas, a cada una se la colocó en una canastilla hidropónica perforada en contacto con 300 mL de la solución nutritiva, en la que se añadió Acetato de Plomo Trihidratado (CH₃COO)₂Pb · 3H₂O hasta alcanzar una concentración de 5 mg.L⁻¹ y durante un periodo de siete días se registró: la tasa de mortalidad, el número de hojas sanas, hojas marchitas y la longitud de las hojas.

Para determinar el porcentaje de plomo removido se tomaron alícuotas de 5mL de la solución nutritiva al segundo, quinto y séptimo día de desarrollo. Para el análisis de las muestras se usó el equipo de absorción atómica (AANALYST 300). Para efectos de comparación y a manera de blanco se emplearon 3 plantas que se pusieron en contacto con la solución nutritiva bajo los mismos parámetros de tiempo y volumen de solución; así mismo, se evaluó la cantidad de líquido evaporado durante el ensayo, para esto se usó dos envases, uno con agua destilada y otro con solución nutritiva contaminada y se registraron los cambios de volumen. Esto se realizó para poder corregir las concentraciones en función del nuevo volumen.

Tabla 3: Solución nutritiva

Componente	Concentración (g.L ⁻¹)
KN ₂ PO ₄	0,263
KNO ₃	0,583
Ca(NO ₃). 4H ₂ O	1,003
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,513
EDTA Fe	0,079
MnSO ₄ .H ₂ O	0,0061
H ₃ BO ₃	0,0017
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,00039
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂ .4H ₂ O	0,00037
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,00044

Tomado de [49]

2.3. Evaluación de la capacidad de absorción de plomo del pasto ryegrass anual en un suelo agrícola contaminado con plomo.

Para esta etapa se empleó un sistema (agua-suelo-planta), el suelo utilizado se obtuvo del barrio Güitig, parroquia Machachi, cantón Mejía en la provincia de Pichincha (a 3 150 msnm).

Por siete días la muestra de suelo se secó a temperatura ambiente y se tamizó con malla de 2 mm, para los ensayos se utilizó la fracción de tamaños menores a 2 mm [47]; y, se realizó la caracterización física (densidad, porosidad, textura) y química (pH, materia orgánica, Ca, Mg) junto con el contenido inicial Pb en el suelo.

Se utilizaron 20 plántulas del pasto ryegrass anual, estas se trasplantaron en recipientes con 600 g de suelo agrícola. Los recipientes fueron conos truncados huecos de 1 L de capacidad, con altura de 0,136 m, abertura superior 0,115 m e inferior de 0,1 m, en la base de cada uno de ellos se colocó una malla de 3 mm de abertura y un plato para permitir el ascenso de las soluciones humectantes por capilaridad, como se observa en la Figura 5.



Figura 5: Esquema del sistema de siembra utilizado.

Se evaluó la capacidad de depuración del suelo por el pasto ryegrass por un periodo aproximado de siete semanas y se tomó registros a la primera, segunda, tercera, cuarta y séptima semana respectivamente [50].

Durante el ensayo se analizó el número de hojas sanas, marchitas, muertas y su longitud; también se recolectaron 30 g de suelo de la parte superficial (0 cm a 20 cm) de cada envase con apoyo de una herramienta cilíndrica de 1 cm de diámetro sin dañar las raíces.

El contenido de plomo remanente y disponible en las muestras de suelo se determinó empleando el método de extracción secuencial (SEP) propuesto por [51]. Como blanco del ensayo se emplearon tres tiestos con suelo contaminado, en los cuales no se colocaron plantas, se siguió el mismo procedimiento descrito y se

evaluó si existió algún cambio en la concentración de plomo debido a la materia orgánica del suelo agrícola

Después de siete semanas de tratamiento se retiraron todas las plantas del suelo, se lavaron las raíces con agua destilada para retirar todas partículas de suelo, se sumergió toda la planta en agua destilada por 2 minutos, luego se secaron a temperatura ambiente, se trituraron y se homogeneizaron independientemente.

Para determinar la cantidad de plomo removido del suelo y contenido en la planta tanto en la raíz como en la parte aérea, se empleó disgregación ácida abierta. Se tomó 1 g de muestra (hojas o raíces secas) y 8 mL de ácido nítrico al 69 %v/v en vasos Erlenmeyer se colocó en agitación durante 40 minutos a una temperatura de 38 °C. Las soluciones obtenidas se analizaron por absorción atómica [52].

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados del desarrollo de pasto ryegrass anual (*Lolium multiflorum*) por medios hidropónicos, en contacto con solución nutritiva.

Los resultados cualitativos obtenidos respecto a los porcentajes de crecimiento y marchitamiento de la planta, raíz y hojas, al finalizar el periodo de 15 días se muestran en la Tabla 4, se aprecia que la planta sobrepasa el 75 % de su crecimiento, lo que se traduce en un desarrollo óptimo en estas condiciones; en cuanto a su fortalecimiento y vitalidad estos se consideran adecuados, ya que su marchitez es menor al 10 % y en consecuencia se encuentran en óptimas condiciones para ser expuestas a medios contaminados con metales pesados como el caso de este estudio [49].

Tabla 4: Crecimiento y marchitamiento del pasto durante los primeros 15 días para 10 plantas.

Planta	Crecimiento (%)			Marchitez (%)
	Planta	Raíz	Hojas	
Pasto ryegrass	75,8 ± 0,2	87,9 ± 0,3	64,2 ± 0,2	9,3 ± 0,3

3.2. Resultados de evaluación de la capacidad de absorción de plomo del pasto ryegrass anual en una solución sintética de plomo (5 mg.L⁻¹).

El sustrato de fibra de coco empleado para desarrollar la planta en las canastillas hidropónicas presenta un color café oscuro, estructura frágil y es fácil de desaglomerar. Posee una concentración de plomo de 0,07 mg.L⁻¹. Porosidad mayor al 90 % y un elevado contenido de materia orgánica > 93 % [47]. Además, un alto poder retentivo de agua (aproximadamente 620

$\pm 0,1 \%$), densidad aparente de $0,18 \text{ g.mL}^{-1}$ y buen drenaje [28].

Su porosidad y alta retención de humedad brinda las condiciones idóneas para el correcto desarrollo del pasto ryegrass anual, pues las raíces se ventilan evitando su putrefacción y evita enfermedades de origen fúngico [53], [54].

En la Tabla 5 se presentan los porcentajes promedio de remoción de plomo por pasto ryegrass anual, desde una solución sintética de 5 mg.L^{-1} , durante una semana de exposición. Estos valores se calcularon mediante la diferencia de la cantidad de plomo inicial y la de plomo remanente en solución. Se puede observar que al quinto día se tiene el máximo porcentaje de remoción ($87,9 \pm 0,2\%$), mientras que al séptimo día se absorbe un $83,4 \pm 0,3 \%$.

Tabla 5: Porcentajes de absorción de plomo durante siete días para 10 plantas.

Planta	Día 2 (%)	Día 5 (%)	Día 7 (%)
Pasto ryegrass	$61,8 \pm 0,7$	$87,9 \pm 0,2$	$83,4 \pm 0,3$

El porcentaje de absorción del $87,9 \%$ se debe a que el pasto ryegrass anual ha desarrollado mecanismos altamente específicos para absorber, traslocar y acumular nutrientes, esto con el objetivo de desarrollar plantas frondosas en poco tiempo. Ya que el plomo presenta un comportamiento electroquímico similar a elementos nutritivos que toma la planta como el calcio en un ambiente con déficit de ésta, por lo tanto, la planta optará por absorber plomo y dependiendo de su estructura esta lo acumulará en sus raíces, tallo u hojas [55]. Es importante destacar que los tallos fibrosos, las hojas largas y la constante generación de brotes influirán positivamente en la absorción de metales pesados como el plomo [56].

La concentración de plomo remanente en la solución hidropónica durante los ensayos realizados se presenta en la Tabla 6, se observa que para el quinto día se obtiene un contenido de plomo de $0,45 \text{ mg.L}^{-1}$. Dicho valor es menor al establecido en el Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (TULSMA), el cual corresponde a $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$, esto en cuanto a límites de descarga de efluentes al sistema de alcantarillado público.

Tabla 6: Concentraciones promedio de plomo remanentes durante 7 días para 10 plantas.

Solución	Día 2 (mg.L^{-1})	Día 5 (mg.L^{-1})	Día 7 (mg.L^{-1})
Sintética de plomo	$1,77 \pm 0,3$	$0,45 \pm 0,7$	$0,47 \pm 0,6$

Estos resultados son susceptibles a cambiar en condiciones reales, [57] establece que en un entorno vegetativo natural no es posible controlar la concentración y el accionar de moléculas con comportamiento, estructura o peso similares al contaminante de interés, lo que resulta en la disminución de la eficiencia con respecto a las pruebas de laboratorio.

En la Figura 6 se observa que después del quinto día de ensayo (cuando tiene lugar la máxima absorción de plomo) se presenta una variación, debido a que en el séptimo día el pasto libera una parte del plomo absorbido, probablemente esto se debe a que la planta trata de volverse resistente a este. Según [58] las plantas pueden elevar el contenido de calcio, lo que a su vez llevaría a niveles más bajos de acumulación del plomo, provocando un bombeo extracelular, posterior a bioacumularlo en las vacuolas.

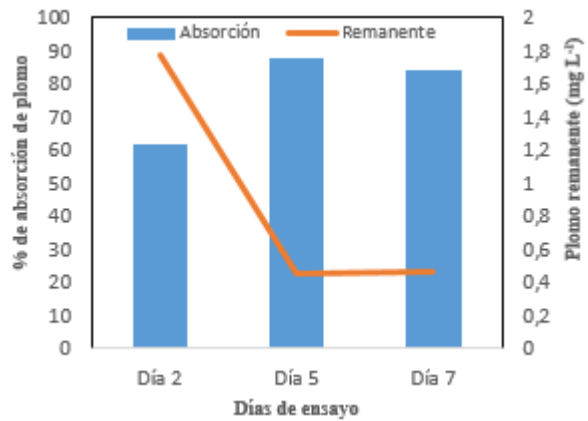


Figura 6: Porcentaje de absorción y plomo remanente del pasto ryegrass para 10 plantas.

En el caso del presente ensayo, dado que la diferencia de absorción de plomo entre el quinto y el séptimo día es de $0,02 \text{ mg.L}^{-1}$, se puede considerar que se trata de un proceso de adaptación de la planta y no al hecho de que esta no sea resistente al plomo [59].

En la Tabla 7 se evidencia que el pasto utilizado tiene valores inferiores al 5% para los parámetros mortalidad y marchitamiento y que el valor del crecimiento es positivo, lo que se traduce en que pese a estar expuesta a un ambiente contaminado la planta es capaz de desarrollarse con normalidad, convirtiéndola en una opción idónea para el tratamiento de metales pesados al acumular plomo en sus tejidos sin mostrar síntomas de toxicidad [60].

Si los porcentajes de mortalidad y marchitamiento sobrepasan al 5% y su crecimiento es atrofiado se determinaría que esta especie no es apta para remediar el metal en cuestión. [61] señala que las plantas no

aptas para fitorremediación pueden presentar estrés que se manifiesta en la reducción fotosintética y el retraimiento del crecimiento en sus hojas y principalmente en sus raíces hasta producir la muerte de la planta en cuestión.

Tabla 7: Porcentaje de mortalidad, marchitamiento y crecimiento de la planta en cultivos hidropónicos para 10 plantas.

Planta	Mortalidad (%)	Marchitez (%)	Crecimiento (%)
Pasto ryegrass anual	2,9 ± 0,2	4,9 ± 0,3	8,4 ± 0,8

3.3. Resultados de Evaluación de la capacidad de absorción de plomo del pasto ryegrass anual en un suelo agrícola contaminado con plomo (200 mg.Kg⁻¹).

El suelo agrícola empleado para este ensayo se tomó a 3 150 msnm, en la provincia de Pichincha, cantón Mejía, ciudad de Machachi, barrio Gütig, su caracterización se describe en la Tabla 8.

Tabla 8: Caracterización física del suelo

Propiedad	Valor	Unidad
Densidad real	2,2	g.cm ⁻³
Densidad aparente	0,9	g.cm ⁻³
Porosidad	59,1	%
Contenido arena	62,1	%
Contenido limo	37,5	%
Contenido arcilla	0,4	%
Textura	Franco-arenosa	

La porosidad del suelo facilitará el movimiento del agua e infiltración de esta, a su vez, facilitará la aireación ya que está relacionado con el espacio que alberga el aire/agua de una manera proporcional [62]. El suelo tiene una textura arenosa, por lo que según lo señala [63] para todos los suelos que se encuentran a lo largo del gradiente altitudinal de 3 200 msnm, le corresponde una clase textural de franco-arenosa que no retiene fácilmente el agua y no presenta una buena adherencia.

El contenido de materia orgánica del suelo es de 7,3 %, este proviene de una zona que estuvo inactiva (sin cultivo por 10 años), posee una densidad aparente de 0,9 g.cm⁻³, lo que mejora la retención del agua y de nutrientes del suelo. El suelo presenta un pH de 5,9 lo que ayudará a la retención de nutrientes y al intercambio catiónico [64].

La concentración de calcio (1,2 mg.L⁻¹) y de magnesio (0,08 mg.L⁻¹) disponibles lo convierte en un suelo deficiente de estos nutrientes. La baja concentración de calcio del suelo podrá favorecer la asimilación de plomo por las plantas ya que estas lo absorberían por la similitud química que tiene con calcio [65].

En la Figura 7 se muestra el porcentaje de remoción de plomo del suelo en el barrio Gütig, Machachi, durante el periodo de siete semanas. Se observa que a la séptima semana se tiene el porcentaje máximo de remoción de plomo del suelo por el pasto ryegrass, el cual corresponde al 55,3 %. Durante la tercera y cuarta semana no se observan mayores cambios en lo que respecta al porcentaje de absorción, esto podría indicar una posible fase de adaptación y estabilización por parte del pasto hasta la 4ta semana, durante el mismo periodo de tiempo se registró un incremento de tan solo tres hojas en promedio por planta, indicando que la planta no creció significativamente. Según [59], el pasto ryegrass en condiciones de exposición a contaminantes o de poca luz presenta un periodo de adaptación de entre dos a cuatro semanas, durante el cual, la planta prioriza un enraizamiento profundo para lograr una mayor absorción de nutrientes del suelo, disminuyendo la velocidad de crecimiento de su cuerpo y hojas, por lo tanto, se evidencia un periodo de adaptación hasta la cuarta semana y el periodo de absorción y acumulación desde la quinta semana.

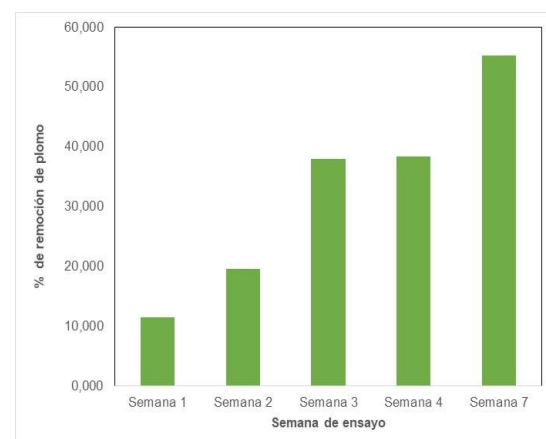


Figura 7: Porcentaje de remoción de plomo del suelo agrícola con el uso de pasto ryegrass para 10 plantas.

Para verificar que la disminución del contenido de plomo en el suelo contaminado se debe principalmente al accionar del pasto por el proceso de fitorremediación y no a la interacción de la materia orgánica presente, se analizaron cambios en los niveles de plomo en muestras de suelo contaminado con ausencia de la planta (blanco).

En la Tabla 9 se observa que el porcentaje de absorción de plomo debido al accionar de la materia orgánica presente en el suelo agrícola (blanco) no es

significativo, aunque se evidencie un incremento en su valor, este incremento se puede atribuir a la presencia de microorganismos (hongos o bacterias) propios del suelo agrícola que tengan la capacidad metabólica o enzimática de captar y/o asimilar el plomo [66].

Tabla 9: Porcentajes de absorción de plomo en relación a la materia orgánica durante 7 semanas para 10 plantas.

Muestra	Semana 1 (%)	Semana 2 (%)	Semana 3 (%)	Semana 4 (%)	Semana 7 (%)
Suelo con pasto	11,5 ± 0,2	19,5 ± 0,3	37,9 ± 0,3	38,4 ± 0,3	55,3 ± 0,5
Suelo sin pasto	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01

En la Tabla 10 se observa que al porcentaje máximo de absorción de plomo de la séptima semana le corresponde un valor de concentración del metal pesado remanente en el suelo de 99,56 mg.Kg⁻¹, este valor ya es menor con respecto a los 100 mg.Kg⁻¹ que se ha establecido como límite de plomo permisible para suelos agrícolas restaurados en la normativa [67].

Tabla 10: Cantidad de plomo remanente en suelo contaminado con plomo para 10 plantas.

Suelo	TULSMA [67] (mg.Kg ⁻¹)	Cantidad inicial (mg.Kg ⁻¹)	Sem.1 (mg.Kg ⁻¹)	Sem.2 (mg.Kg ⁻¹)
Machachi	100	215,91 ± 0,7	194,32 ± 0,4	165,38 ± 0,7

Suelo	TULSMA [67] (mg.Kg ⁻¹)	Sem. 3 (mg.Kg ⁻¹)	Sem. 4 (mg.Kg ⁻¹)	Sem. 7 (mg.Kg ⁻¹)
Machachi	100	126,15 ± 0,3	116,24 ± 0,5	99,56 ± 0,7

[68] señala que la absorción de metales pesados por las plantas depende de la biomasa que estas desarrollan; puesto que, a mayor cantidad de esta mayor será el porcentaje de absorción de contaminantes, en este caso, el proceso de fitorremediación se ve favorecido por la estructura fibrosa y resistente que posee el pasto ryegrass. Así mismo, la acidez del suelo influiría en la remoción del plomo por medio del pasto al facilitar el intercambio catiónico [64].

En la Tabla 11 se muestran los porcentajes de plomo presentes en la masa seca de las raíces, de las hojas y tallos. Se determina que el mayor porcentaje se concentra principalmente en la zona foliar demostrando que la planta posee una gran capacidad para acumular el metal pesado.

Tabla 11: Distribución de plomo en las secciones de la planta para 10 plantas.

Muestra	Absorción (% peso)
Raíz	35,5 ± 0,6
Hojas y tallos	65,7 ± 0,7

Este fenómeno indica que se trata de una especie hiperacumuladora de metales pesados [69]. La concentración de plomo fue mayor en las hojas y tallo que en las raíces, es decir, la planta permite que el metal viaje por la parte fibrosa del tallo y la estructura vegetativa, por tanto, a mayor cantidad foliar más cantidad de plomo será absorbido según expone [69]. Debido a este efecto, el metal pesado es atrapado en los tejidos vegetales y permanecerá en la estructura sin que este se libere nuevamente al ambiente lo que permite depurar suelos o corrientes de agua contaminadas con plomo para posteriormente llevar las plantas a procesos de incineración o confinamiento [24].

Dado que el metal en cuestión permanece en las especies vegetales, estas pueden ser ingeridas por animales y posteriormente por humanos, generando una bioacumulación de plomo en dichos organismos, esto puede provocar graves enfermedades a nivel del sistema óseo, nervioso y sanguíneo [70]. Este peligro se debe considerar principalmente cuando se tienen cultivos de pasto y alimentos, cercanos a zonas afectadas por actividad industrial y de transporte, como es el caso del suelo estudiado.

Los resultados cualitativos relacionados a los porcentajes de mortalidad, marchitamiento y crecimiento se encuentran en la Tabla 12, el porcentaje de crecimiento obtenido demuestra que el pasto ryegrass anual posee capacidad para desarrollarse y crecer en un ambiente contaminado en presencia de metales pesados en altas concentraciones [71].

Tabla 12: Porcentaje de mortalidad, marchitamiento y crecimiento de la planta en suelo agrícola contaminado con plomo para 10 plantas.

Planta	Mortalidad (%)	Marchitez (%)	Crecimiento (%)
Pasto ryegrass anual	16,6 ± 0,5	29,2 ± 0,6	47,7 ± 0,6

Esta tolerancia al plomo en las plantas se debe a procesos adaptativos que inactivan metabólicamente los elementos esenciales y no esenciales cuando representan un peligro hacia la integridad celular [72]. La tolerancia puede aumentar cuando las plántulas se desarrollan y crecen en lugares que fueron contaminados previamente lo cual genera una rápida adaptación [73]. Por ende, la resistencia que muestra el

pasto ryegrass anual al sobrevivir en suelos contaminados con plomo se debe a su aparato radicular extenso y desarrollado que permite clasificar estas especies como estabilizadores y pueden ser usadas para fitorremediación o depurar suelos contaminados [74] por varios tipos de metales.

4. CONCLUSIONES

Al aplicar la técnica de fitorremediación durante siete semanas se obtuvo una reducción de 200 mg Pb.Kg⁻¹ a 99,56 mg Pb.Kg⁻¹ en un suelo agrícola, esto refleja que la fitorremediación puede ser empleada para remover plomo de suelo contaminado dado que se afirma que el pasto ryegrass anual es capaz de depurar soluciones con contenidos de plomo 10 veces superiores a la normativa ecuatoriana, tras cinco días de contacto. Sin embargo, requiere periodos prolongados de tiempo comparado a otras técnicas.

El porcentaje de plomo absorbido por el pasto ryegrass anual fue mayor en la zona de las hojas y tallo 65,7 ± 0,7 %, mientras que en las raíces fue 35,5 ± 0,6 %. Por tanto, a mayor masa foliar existe mayor cantidad de plomo absorbido.

Un factor que favorece la remoción de plomo es la similitud química entre este y el calcio, en suelos con baja concentración de calcio, como el del presente estudio (1,2 mg Ca Kg⁻¹), la planta suple el déficit con plomo asimilándolo e ingresándolo a sus procesos metabólicos, eliminando el contaminante del suelo.

Desde su desarrollo en medios hidropónicos, hasta su uso en la absorción de plomo de una solución sintética y del suelo agrícola, el pasto ryegrass (*Lolium multiflorum*) mostró un adecuado crecimiento ligado con su alto follaje, robustez y la escasa marchitez de sus hojas; cabe recalcar que, estos resultados se dieron con el desarrollo de la planta a 2 850 msnm. Además, el sustrato utilizado fue adecuado para los ensayos hidropónicos realizados.

La acidez del suelo también repercute en la remoción de plomo, a un pH=5,8 como el caso de este estudio, donde los fenómenos como el intercambio catiónico se verán favorecidos incrementando la absorción metabólica anual del plomo por parte del pasto ryegrass.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, “Tierras cultivables,” 2021, [En línea]. <https://datos.bancomundial.org/indicador/AG.LN.D.ARBL.ZS>
- [2] K. Alaboudi & B. Ahmed, “Phytoremediation of Pb and Cd contaminated soils by using sunflower (*Helianthus annuus*) plant,” *Ann.Agric.Sci*, vol. 63, pp. 123-127, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2018.05.007>.
- [3] S. Ucaroglu, & I. Talinli, “Recovery and safer disposal of phosphate coating sludge by solidification/stabilization,” *J. Environ. Manage*, vol. 105, pp. 131-137, 2012.
- [4] F. Douay & C. Waterlot, “Contamination of urban soils in an area of Northern France polluted by dust emissions of two smelters,” *Water. Air. Soil Pollut*, vol.188, pp.247-260, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9541-7>.
- [5] J. Rosas & M. Hernandez, “Evaluación de la transferencia y especiación de arsénico en cultivos de maíz (*Zea mays*),” *Cienc. UANL*, vol. 18, pp. 33-39, 2015.
- [6] A.E. Delgadillo & O. Acevedo, “Phytoremediation: An alternative to eliminate pollution, *Trop. Subtrop*,” *Agroecosystems*, vol.14, pp. 597-612, 2011.
- [7] S.A. Covarrubias & J. Peña, “Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación,” *Rev. Int. Contam. Ambient*, vol.33, pp. 7-21, 2017 <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.esp01.01>
- [8] J. Prieto, O. Acevedo, F. Prieto, & N. Trejo, “Phytoremediation of soils contaminated with heavy metals,” *Biodiversity International Journal*, vol. 2, pp. 362-376, 2018.
- [9] I. Ortiz, J. Sanz, M. Dorado, & S. Villar, “Técnicas de recuperación de suelos contaminados,” 2007. https://www.madrimasd.org/uploads/informacionidi/bibliotec_a/publicacion/doc/VT/vt6_tecnicas_recuperacion_suelos_con_taminados.pdf.
- [10] W. Chen & H. Li, “Cost-Effectiveness Analysis for Soil Heavy Metal Contamination Treatments,” *Water. Air. Soil Pollut*, pp. 229, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3784-3>
- [11] A. Mas & J. Azcue, “Metales en sistemas biológicos. España,” ISBN: 84-477-0175-1, 1993.
- [12] H. Ali & E. Khan, “Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications,” *Chemosphere*, vol.91, no.7, pp. 869-881, 2013. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.01.075
- [13] A. J. Pollard, K. D. Powell, F. A. Harper, & J. A. C. Smith, “The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants,” *Crit. Rev. Plant Sci.*, vol. 21, no. 6, pp. 539-566, 2002. DOI:10.1080/0735-260291044359
- [14] R.D. Reeves, “Hyperaccumulation of nickel by serpentine plants,” Baker,A.J.M, pp. 253-277.

- [15] M. E. Beltrán-Pineda, & A. M. Gómez-Rodríguez, "Biorremediación de heavy metal cadmio (Cd), chrome (Cr) and mercury (Hg), biochemical mechanisms and genetic engineering: A review," *Revista Facultad De Ciencias Básicas*, vol. 12, pp. 172-197, 2016. <https://doi.org/10.18359/rfcb.2027>
- [16] C. Govindasamy & A. Ilayaraja, "Concentration of heavy metals in seagrasses tissue of the Palk Strait, Bay of Bengal," *Int. J. Environ. Sci.*, vol. 2, pp. 145-153, 2011. doi:10.6088/ijes.00202010016
- [17] P. López, "Determinación de la capacidad de sorción de arsénico de plantas representativas de la flora de Mayoc," *REVCUNI*, vol. 14, pp. 1-4, 2021. <https://www.revistas.uni.edu.pe/index.php/revcuni/article/view/915>
- [18] C. Garbisu & I. Epelde, "Bioindicadores de la calidad del suelo : herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso fitorremediador," *Ecosistemas*, vol.16, pp. 44-49, 2007. <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/127>
- [19] T. Günther & W. Fritsche, "Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil," *Chemosphere*, vol. 33, pp. 203-215, 1996. doi:10.1016/0045-6535(96)00164-6
- [20] M. Viñas, "Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos: caracterización microbiológica, química y ecotoxicológica," Tesis doctoral, Universidad de Barcelona, 2005.
- [21] D. C. Adriano, W. Wenzel, "Role of assisted natural remediation in environmental cleanup," *Geoderma*, vol.122, pp 121-142, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.01.003>
- [22] R. Jabeen, M. Iqbal, "Phytoremediation of heavy metals: physiological and molecular mechanisms," *Bot. Rev.*, vol.75, pp. 339-364, 2009 DOI:10.1007/s12229-009-9036-x
- [23] S. López & M. Gutierrez, "Mecanismos De Fitorremediación De Suelos Contaminados Con Moléculas Orgánicas Xenobióticas," *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, vol. 21, pp. 91-100, 2018.
- [24] K. Hirata & K. Miyamoto, "Biosynthetic regulation of phytochelatin, heavy metal-binding peptides," *J. Biosci. Bioeng.*, vol.100, pp. 592-599, 2005. <https://doi.org/10.1263/jbb.100.593>
- [25] A.H. Khan & S. Yousaf, "Ornamental plants for the phytoremediation of heavy metals: Present knowledge and future perspectives," *Environmental Research*, 2021. doi:10.1016/j.envres.2021.110780
- [26] N. Bolan & A. Kunhikrishnan, "Remediation of heavy metalloids contaminated soils – To mobilize or to immobilize?," *Journal of Hazardous Materials*, vol.266, pp. 141-166, 2014. doi:10.1016/j.jhazmat.2013.12.018
- [27] V. Cala & Y. Kunimine, "Distribución de plomo en suelos contaminados en el entorno de una planta de reciclaje de baterías ácidas," *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, vol.9, pp. 109–115, 2003.
- [28] E. Coyago & S. Bonilla, "Absorción de plomo de suelos altamente contaminados en especies vegetativas usadas para consumo animal y humano," *La Granja*, vol. 23, 2016. <https://doi.org/10.17163/lgr.n23.2016.04>
- [29] G.M. Mudd, "The environmental sustainability of mining in Australia: key mega-trends and looming constraints," *Resource Policy*, vol. 35, pp. 98-115, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.resourpol.2009.12.001>
- [30] M. V. Ruby, A. Davis, R. Schoof, & C. M. Sellstone, "Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 30, pp. 422-430, 1996.
- [31] M. Paredes, "Evaluación de la calidad ambiental en zonas influenciadas por la minería de oro en el sur de Ecuador," Tesis, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, 2022.
- [32] A. Garzón, "Informe Plomo y Cadmio en Ecuador," Ministerio de Ambiente de la República del Ecuador, 2006
- [33] F. Borraza & L. Maurice, "Distribution, contents and health risk assessment of metal(loid)s in small-scale farms in the Ecuadorian Amazon: An insight into impacts of oil activities," *Science of The Total Environment*, vol. 23, pp. 106-120, 2018. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.11.246
- [34] M. Tello, "Determinación de las concentraciones de plomo y cadmio en suelos de sectores aledaños al parque industrial de la ciudad de Cuenca," *Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento*, vol. 2, pp. 560-577, 2018.
- [35] M. Ochoa, W. Tierra, D. Tupuna, D. Guanaluiza, X. Otero, & J. Ruales, "Assessment of cadmium and lead contamination in rice farming soils and rice (*Oryza sativa* L.) from Guayas province in Ecuador," *Environmental Pollution*, vol. 260, 2020.
- [36] V. Ibijés, "Evaluación de la remoción de arsénico en suelos contaminados por la técnica de fitorremediación [Tesis universitaria, Escuela Politécnica Nacional]," 2018.

- [37] G. Evers & C. Hoveland, "Ecology, Production, and Management of *Lolium* for Forage in the USA," CSP, vol.24, 1997. <https://doi.org/10.2135/cssaspecpub24.c3>
- [38] D. Hannaway & W. Lane, "Annual Ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam)", PNW 501, 1999.
- [39] E. Freire, "Guía para la producción de semilla Ryegrass anual," Boletín divulgativo INIAP, pp. 1-30, 1993. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/268>
- [40] L. Villalobos, J. Arce, & R. Wing Ching, "Producción de biomasa y costos de producción de pastos Estrella Africana (*Cynodon nlemfuensis*), kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*) y Ryegrass Perenne (*Lolium perenne*) en lecherías de Costa Rica", Agron Costarricense, vol. 37, no. 2, pp. 91-103, 2013.
- [41] J. Kirk & J. Treyors, "The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil," Environmental Pollution, vol. 133, pp. 455-465, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.06.002>
- [42] H. Xie, Y. Ma, Y. Wang, F. Sun, R. Liu, X. Liu, & Y. Xu, "Biological response and phytoremediation of perennial ryegrass to halogenated flame retardants and Cd in contaminated soils," Journal of Environmental Chemical Engineering, vol. 9, no. 6, 2021.
- [43] M. Zalewska, "Response of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) to soil contamination with zinc," Journal of Elementology, vol. 17, no. 2, 2012.
- [44] F. Galal & K. Ghazi, "Mansour, Phytostabilization of heavy metals by the emergent macrophyte *Vossia cuspidata* (Roxb.) Griff.: A phytoremediation approach," Int. J. Phytoremediation, vol. 19, pp 992-999, 2017. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1303816>.
- [45] S. Nath, "Arsenic Stress in Plants," Journal of Agronomy and Crop Science, vol. 196, no. 3, pp. 161-174, 2010.
- [46] A. Bhargava & F. Carmona, "Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals." Journal of Environmental Management, vol. 105, pp. 103-120, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.04.002>.
- [47] M. Sandoval, M. Zapata, J. Celis, C. Quezada, J. Capulín, & A. Solís, "Efecto de la aplicación de fibra de coco (*Cocos nucifera* L.) en el almacenamiento y eficiencia del uso del agua en un Alfisol, sembrado con ballica (*Lolium multiflorum* L.) y en la toxicidad en lechuga (*Lactuca sativa* L.)," AGROSUR, vol. 41, no. 3, pp. 1-11, 2013.
- [48] G. Martin, "Guía rápida de plantas aromáticas y medicinales en balcones y terrazas," Un Huerto En Mi Balcón, pp. 1-9, 2015. https://counties.agrilife.org/hidalgo/files/2020/10/Un-huerto-en-mi-balcon_Guia-Pl-aromaticas.pdf
- [49] M. Urrestarazu Gavilán, "Tratado de cultivo sin suelo," 3th ed. España, Ed. Mundi-Prensa, 2004.
- [50] M. Jang & J.K. Park, "Remediation of arsenic-contaminated soils and washing effluents," Chemosphere, vol.60, pp. 344-354, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.12.018>
- [51] W. Wenzel, N. Kirchbaumer, T. Prohaska, G. Stingeder, E. Lombi, & D. C. Adriano, "Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure," vol. 436, no. 2, pp. 309-323, 44, 2001.
- [52] S. Marin & R. Cecilia, "Evaluation of performance parameters for trace elements analysis in perennial plants using icp-oes technique," J. Plant Develop, vol. 18, pp. 87-93, 2011.
- [53] C. Gosálbez, "¿Qué es la fibra de coco?," 2012 https://www.planetahuerto.es/revista/que-es-la-fibra-de-coco_00151
- [54] C. Moreno & R. Anderson, "Phytofiltration of mercury-contaminated water: Volatilisation and plant-accumulation aspects," Environ. Exp. Bot, vol. 62, pp. 78-85, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.07.007>.
- [55] M. Oaisar, R. Audil, A. Sehikh, A. Muhammad, & B. Muhammad, "Estudio exploratorio para determinar zonas potenciales de inundación y depósito de arsénico en cuencas de montaña," Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México, 2012.
- [56] P. Zhou, F. Yang, X. Ren & B. H. Y. An, "Phytotoxicity of aluminum on root growth and indole-3-a acid accumulation and transport in alfalfa roots," Environmental and experimental botany, vol. 104, 2014.
- [57] M. Flores & L. Hernandez, "Specific mechanisms of tolerance to copper and cadmium are compromised by a limited concentration of glutathione in alfalfa plants," Plant Science, vol.233, pp. 165-173, 2015.
- [58] M. Catalá, "Efectos de los metales pesados en las plantas," 2021. <https://toxamb.wordpress.com/2014/12/11/efectos-de-los-metales-pesados-en-las-plantas>
- [59] P. Memon & P. Schröder, "Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation," Environ. Sci. Pollut. Res, vol. 16, pp. 162-175, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11356-008-0079-z>

- [60] I. Sherameti, & A. Varma, Detoxification of heavy metals, 30th ed., 2011.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-21408-0_1
- [61] G.N. Agrios, "Introducción a la fitopatología. In Fitopatología," 2da ed, México, Limusa, 2010.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- [62] L. Flores & J. Alcalá, "Manual de procedimientos analíticos: Laboratorio de Física de Suelos," UNAM, 2010.
- [63] L. García & J. Schlatter, "Caracterización de suelos a lo largo de un gradiente altitudinal en Ecuador", Revista Brasileira de Ciencias Agrarias, vol.7, pp. 456-464, 2012.
- [64] C. Romero, E. García, & E. Hernández, "Materia orgánica y densidad aparente en suelos del suroeste de La Malinche," Revista Iberoamericana de Ciencia, vol. 2, no. 5, pp. 63-70, 2015.
- [65] N. Verbruggen, C. Hermans, & H. Schat, "Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants," New Phytol, vol. 81, no. 4, pp. 759-776, 2009.
- [66] D. C. Adriano, "Trace Elements in Terrestrial Environments," Springer New York, vol. 2, 2001.
<https://doi.org/10.1007/978-0-387-21510-5>
- [67] Ministerio del Ambiente Ecuatoriano, "Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente," Anexo. 4, Libro, 4, 2003.
- [68] L. Agudelo & K. Macías, "Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos," Red Revista Lasallista, vol. 2, 2009.
- [69] M. Mahdich & M. Yazdani, "The high potential of *Pelargonium roseum* plant for phytoremediation of heavy metals," Environ Monit Assess, vol. 185, pp. 7877–7881, 2013.
doi: 10.1007/s10661-013-3141-3
- [70] NOM, "Salud ambiental. Niveles de plomo en sangre y acciones como criterios para proteger la salud de la población expuesta no ocupacionalmente," NOM-199-SSA1-2000: 20, Norma Oficial Mexicana, 2002.
- [71] D. González & O. Zapata, "Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas" Soc.Bot.Méx, vol.82, pp. 53-61, 2008.
<http://www.scielo.org.mx/pdf/bsbm/n82/n82a5.pdf>
- [72] Y. Cai & L.Q.Ma, "Metal Tolerance, Accumulation, and Detoxification in Plants with Emphasis on Arsenic in Terrestrial Plants. In Biogeochemistry of Environmentally Important Trace Elements", American Chemical Society, vol.23, Florida, 2002.
<https://doi.org/10.1021/bk2003-0835.ch008>
- [73] A. J. Pollard, "Diversity of metal tolerances in *Plantago lanceolata* L. from the southeastern United States," New Phytologist, vol. 86, no. 1, pp. 362-376, 1980.
- [74] P. Álvarez & M. García, "Proyecto Piloto para la Aplicación de Fitorremediación a Suelos Contaminados por Metales Pesados: Mercurio, Arsénico y Plomo-Zinc en Asturias," 2010.