

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE TOLERANCIA A HIDROCARBUROS Y POTENCIAL DE FITORREMEDIACIÓN DE CUATRO ESPECIES VEGETALES DEL SECTOR BAEZA-EL CHACO, ECUADOR

TOLERANCE LEVELS TO HYDROCARBONS AND PHYTOREMEDIATION
POTENTIAL OF FOUR PLANT SPECIES IN BAEZA-EL CHACO, ECUADOR

Patricio Yáñez^{1,2} y Miriam Bárcenas¹

¹Centro de Investigación y Modelamiento Ambiental, CIMA-UPS, Universidad Politécnica Salesiana, Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson, Telf. (593 2) 3962800, Quito, Ecuador.

²Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad Iberoamericana del Ecuador, 9 de Octubre N25-12 y Colón, Telf. (593 2) 2555656, Quito, Ecuador.

Autor para correspondencia: ayanez@ups.edu.ec.

Manuscrito recibido el 13 de noviembre de 2011. Aceptado, tras revisión, el 8 de junio de 2012.

Resumen

Para Ecuador, el petróleo es la principal fuente de ingresos; la producción y las fases de la actividad petrolera pueden afectar al ambiente, pues conllevan riesgos de contaminación por derrames, siendo ineludible remediar estos daños de alguna manera. La fitorremediación se presenta como una tecnología alternativa de bajo costo para limpiar suelos contaminados; en el presente trabajo se evalúan los niveles de tolerancia y potencial de fitorremediación de *Ludwigia peruviana*, *Mimosa polydactyla*, *Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis* en suelo contaminado con petróleo (3 y 6 % de concentración), mediante comparación del cambio en el contenido de hidrocarburos en tales suelos por el método gravimétrico. El estudio se realizó en un invernadero en la comunidad de San Luis, cantón El Chaco, provincia de Napo y en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana en la ciudad de Quito. El trasplante de las plantas silvestres recolectadas se realizó a los 14 días después de contaminado el suelo con las diferentes concentraciones de petróleo. El diseño experimental fue de cuatro repeticiones por tratamiento y seis tratamientos para cada especie. Se encontró que los mejores resultados de actividad fitorremediadora fueron para *Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis* a bajas concentraciones de petróleo (3 %) y con aplicación de fertilizante.

Palabras claves: fitorremediación, tolerancia a contaminación, hidrocarburos, suelo, especies vegetales nativas.

Abstract

In Ecuador, petroleum is the main source of income; the production and phases of oil industry can affect the environment, mainly through pollution from spills, being necessary to remediate this damage somehow. Phytoremediation is presented as a low cost alternative technology for cleaning contaminated soil, in this study we evaluate the levels of tolerance and phytoremediation potential of *Ludwigia peruviana*, *Mimosa polydactyla*, *Tessaria integrifolia* and *Verbena litoralis* in soil contaminated with petroleum (3 and 6 % concentration), by comparing the change in the hydrocarbon content in such soil soils by gravimetric method. The study was carried out in a greenhouse implemented in community of San Luis, town El Chaco, Napo Province and in the laboratories of the Universidad Politécnica Salesiana-Quito. Transplanting wild plants was 14 days after soil contamination with different concentrations of petroleum. The experimental design included four replicates and six treatments for each species. It was found that the best result for phytoremediation were for *Tessaria integrifolia* and *Verbena litoralis* at low concentrations of oil (3 %) and including fertilizer application.

Keywords: phytoremediation, tolerance to pollution, petroleum, soil, native plants species.

Forma sugerida de citar: Yáñez, P. y M. Bárcenas. 2012. **Determinación de los niveles de tolerancia a hidrocarburos y potencial de fitorremediación de cuatro especies vegetales del sector Baeza-El Chaco, Ecuador.** La Granja. Vol. 15(1): 27-48. ISSN: 1390-3799.

1. Introducción

El petróleo es la principal fuente de ingresos de Ecuador y su producto de mayor exportación (Jones, 2010); con una producción promedio de 475.173 barriles de crudo por día, de los cuales un 34 % son extraídos por las empresas privadas, mientras que el 66 % restante es generado por las empresas públicas (Silva, 2010).

Ecuador es un país megabiodiverso; sus bosques y otros ecosistemas contienen una altísima biodiversidad. La producción de petróleo y las diferentes fases de la actividad petrolera eventualmente la afectan, principalmente por la ocurrencia de contaminación por derrames de petróleo (Vogliano, 2009).

Desafortunadamente, en general, las empresas que se han venido encargando de la extracción y gestión del petróleo no han cumplido a cabalidad con las respectivas normas de prevención y corrección de contaminación ambiental ocasionada por derrames.

Es así que, considerando los efectos que provocan estos eventos para la salud ambiental y humana, en el presente trabajo se evalúan los niveles de tolerancia y potencial de fitorremediación de cuatro especies nativas: *Ludwigia peruviana*, *Mimosa polydactyla*, *Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis*, en suelo con una contaminación simulada de petróleo al 3 y 6 %.

La presente investigación se basó en el principio en el que se fundamenta la técnica de la biorremediación, el cual indica que la naturaleza es capaz de subsanar incluso los peores daños ambientales ocasionados por hidrocarburos del petróleo, empleando para ello su capacidad de regeneración, siempre y cuando se le dé el tiempo adecuado para hacerlo (Mendoza y Gómez, 2002). Según Ibáñez (2006), la fitorremediación es una rama de la biorremediación, que utiliza plantas para llevar a cabo acciones de eliminación o transformación de varios contaminantes.

Ortiz (2004) enuncia que entre los contaminantes que pueden ser biorremediados se pueden incluir a algunos metales, plaguicidas, solventes, explosivos, petróleo, hidrocarburos aromáticos policíclicos y lixiviados en vertederos. Además, es una técnica muy aventajada con respecto a técnicas de remediación convencionales, pues sus costos son bajos, contribuye a la estabilización del suelo, así como a la mejora del paisaje, y reduce los lixiviados de agua y el transporte de los contaminantes inorgánicos del

suelo, aunque evidentemente el tiempo requerido para llevar a cabo este tipo de remediación es más largo que el utilizado por otras tecnologías (Ibáñez, 2006).

2. Materiales y métodos

2.1 Área de estudio y selección de especies

Se seleccionaron cuatro especies vegetales nativas de la región andino-amazónica, procedentes del sector Baeza-El Chaco, que mostraron tolerancia a derrames de petróleo, en vista de su presencia persistente en zonas con estos eventos reportados.

Se instaló un invernadero (Figura 1) en la comunidad de San Luis, Cantón El Chaco (Figura 2), con el objetivo de comprobar la tolerancia y potencial de fitorremediación a hidrocarburos en suelo por parte de las cuatro especies vegetales mencionadas. Se evaluó el crecimiento de las mismas a través de un monitoreo periódico.



Figura 1. Invernadero implementado en la comunidad de San Luis, agosto 2010.

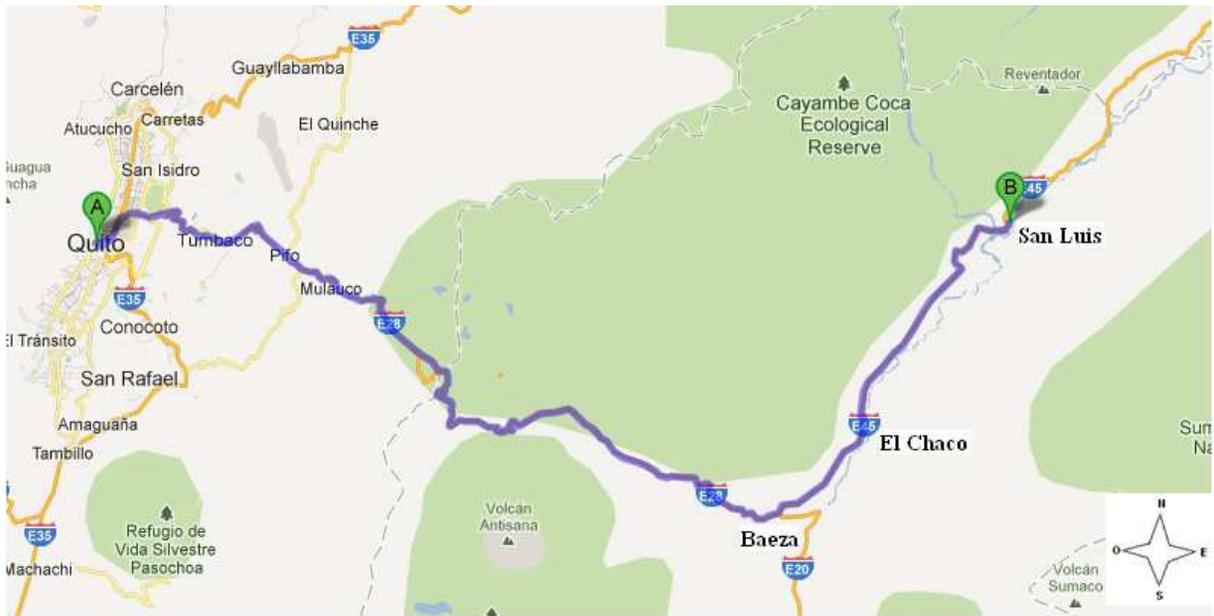


Figura 2. Mapa de la Hoya del Quijos y de la ubicación de la comunidad de San Luis. A: Quito, B: comunidad de San Luis, canton el Chaco, provincia de Napo. Distancia A-B: 153 km aproximadamente. Fuente: adaptado de (<http://maps.google.com/>)

2.2 Implementación de tratamientos de fitorremediación en invernadero

El invernadero se implementó como un sistema con condiciones ambientales semi-controladas, con la finalidad de eliminar interferencias no deseadas (excesos de agua por lluvias, exagerada insolación, etc.) y de difícil interpretación en la investigación. Se registraron los cambios o sucesos que se dieron en las plantas como indicativo de que fue posible o no la fitorremediación.

Determinación sistemática de posibles especies vegetales bio-rremediadoras: cuatro especies fueron seleccionadas de entre las especies nativas con mayor población (un indicio indirecto de tolerancia) en sitios contaminados con petróleo (según la metodología recomendada por US EPA, 2000 e ITRC, 2001; citados por Maqueda, 2003). Para ello, en mayo de 2010 se realizaron tres salidas de campo para determinar las especies más prometedoras para la investigación a zonas con derrames de petróleo reportados en los últimos años visitándose los lugares

de Papallacta (alrededores de la Laguna de Papallacta), Baeza (comunidad Cuyuja), El Chaco (sector Piedra Fina). En este último se visitaron dos comunidades del sector de Piedra Fina, eligiéndose al final a la comunidad de San Luis como el sitio para la instalación del invernadero, con coordenadas UTM 18M 0209359, 9°985446, a 1.296 msnm.

Recolección: individuos vegetales silvestres de *Ludwigia peruviana*, *Mimosa polydactyla*, *Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis* fueron recolectados en el sector Piedra Fina y alrededores, cantón El Chaco, provincia de Napo; se tomaron los especímenes vegetales de las cuatro especies de sitios libres de contaminación. Previa a la obtención de las plantas se preparó el sustrato (mezclando manualmente hasta obtener 4 kg de suelo homogéneo con la cantidad que correspondía de petróleo a las concentraciones definidas). Las características tomadas en cuenta en las plantas recolectadas fueron: buen estado anatómico, robustez, color natural y ausencia de plagas; el número de plantas recolectado para aplicar los tratamientos fue de 24 por especie.

Tabla 1. Diseño experimental aplicado. (a) En cada celda se menciona el número de bolsas plásticas con suelo procedente de San Luis y bajo las condiciones experimentales determinadas por las columnas y filas. (b) El fertilizante usado fue orgánico líquido “Bioplus” (<http://dspace.esPOCH.edu.ec>).

Especie	Tratamientos					
	Suelo sin Fertilizar (a)			Suelo con Fertilizante (b)		
	No. de Plantas en suelo sin contaminante	Plantas en suelo con 3% de petróleo	Plantas en suelo con 6% de petróleo	No. de Plantas en suelo sin contaminante	Plantas en suelo con 3% de petróleo	Plantas en suelo con 6% de petróleo
Ludwigia peruviana	4	4	4	4	4	4
Mimosa polydactyla	4	4	4	4	4	4
Tessaria integrifolia	4	4	4	4	4	4
Verbena litoralis	4	4	4	4	4	4
Sin especie vegetal (Control)	0	2	2	0	2	2

2.3 Características del diseño experimental

Población: en la Tabla 1 se presenta la distribución y las condiciones a las cuales se sometió a los individuos de las especies vegetales para determinar su capacidad de tolerancia y fitorremediación.

Trasplante: los individuos colectados en campo se trasplantaron (Figura 3) hacia bolsas plásticas (no perforadas) de 5 litros que contenían el sustrato previamente preparado (14 días antes, según lo recomendado por Saad *et al.* (2009)) con el contaminante a las concentraciones establecidas en el diseño experimental. Este proceso se llevó a cabo en agosto de 2010, una semana después de la recolección de las plantas, pues se debía descartar la posibilidad de marchitamiento de las mismas por estrés. Se agregó también el fertilizante líquido orgánico Bioplus (<http://dspace.esPOCH.edu.ec>) a los tratamientos que correspondía según el diseño experimental. Posteriormente, en el transcurso y evolución del cultivo se realizaron riegos periódicos moderados (aproximadamente cada 3 días) a fin de mantener una humedad constante.

Obtención del sustrato: previo al uso del suelo se llevó a cabo un análisis de su grado de contamina-

ción por hidrocarburos de petróleo. Este suelo procedió de la comunidad San Luis, del cantón El Chaco. Se tamizó el suelo para eliminar las gravillas y la gran mayoría de restos de material vegetal, se homogeneizó todo el material y se extrajeron varias submuestras para caracterizarlo con pruebas físico-químicas (Tabla 2) de acuerdo a lo recomendado por Luque (2009).



Figura 3. Trasplante de las plantas recolectadas en campo, agosto 2010.

Tabla 2. Resultados de los análisis en el suelo utilizado. Una sola muestra compuesta de aprox. 500 mg procedentes de la zona del invernadero. cmol = centimoles; TPH = Hidrocarburos Totales de Petróleo.

Suelo sin contaminación (al inicio del experimento)	
Parámetro	Resultado
pH	6,02
% Humedad	18,80
% Materia Orgánica	3,26
% Nitrógeno	0,16
Fósforo (ppm)	1,00
Potasio (cmol/kg)	0,25
g TPH en 4 kg Suelo Seco	0,0001

Obtención del contaminante (petróleo): la cantidad de crudo de petróleo utilizado como elemento contaminante del suelo fue de aproximadamente 20 litros (repartidos en las bolsitas experimentales de acuerdo al diseño experimental enunciado).

2.4 Métodos utilizados para verificar la Dinámica de la Fitorremediación

Monitoreo y control de individuos vegetales. Los monitoreos periódicos miden el progreso de la remediación (US EPA, 2000 e ITRC, 2001; citados en Maqueda (2003)), por lo que en esta fase se llevó un control y registro periódico (1 vez por semana o máximo cada 15 días) de la evolución de las plantas en los tratamientos establecidos en invernadero. Los datos registrados en cada observación fueron: altura de las plantas, dimensión y número de las hojas, eventos y días de floración-fructificación, estado general de las plantas y cambios morfológicos ocurridos. Debido al ataque de insectos se aplicó también un insecticida de alta intensidad "Monitor" (<http://www.proficol.com.co>).

2.5 Determinación de características físico-químicas del suelo al inicio y al final de la investigación

Las características originales físico-químicas del suelo (Tabla 2) fueron determinadas de acuerdo principalmente a metodologías sugeridas por Fernández et al. (2006): humedad, pH, materia orgánica, textura, nutrientes (N, P y K) y el contenido inicial y final de hidrocarburos (5 meses después: Anexo). La metodología para los análisis efectuados se presenta en la Tabla 3; los análisis fueron realizados en los laboratorios del CIVABI de la UPS-Quito y en los laboratorios AGROCALIDAD y CENTRO-CESAL. Los análisis de todas las muestras se realizaron por duplicado; y se preparó el suelo según la norma INEN 688, previo a la aplicación de los ensayos (INEN, 1982b).

2.6 Determinación del grado de contaminación del suelo por TPHs (Hidrocarburos totales del petróleo)

Se aplicó el Método Gravimétrico (Tabla 3): colocando a peso constante los vasos de precipitados de 50 mL (allí se vertió el extracto orgánico (Figura 4) obtenido al final del ensayo), estos recipientes se conservaron en un desecador. Se pesó 5 g de suelo en un matraz de 50 mL con tapa; dentro de una cámara de flujo laminar se añadieron 25 mL de diclorometano (disolvente) más un imán de agitación; se colocó la tapa al matraz y se agitó en un agitador magnético durante 45 minutos. A continuación se filtró la mezcla en un filtro al vacío, el extracto se trasvasó al recipiente de peso constante preparado al inicio y se dejó evaporar en la cámara de flujo laminar durante 24 horas, para asegurar la evaporación del solvente se colocó en una estufa a 40 °C por 6 horas, se dejó enfriar en un desecador y se pesó.

Para el cálculo de concentración de hidrocarburos totales del petróleo provenientes de las muestras se consideró la cantidad de suelo que se pesó para la extracción, así como la humedad de la muestra; finalmente se aplicó la siguiente fórmula propuesta para el método "Soxhlet" por Fernández *et al.* (2006):

$$HTPs(\text{mg/kg de s.s}) = \frac{(RB - RA) \cdot FC}{P \cdot FH} \quad (1)$$

Tabla 3. Detalle de los métodos utilizados en la caracterización de los suelos.

Característica Edáfica analizada	Método	Referencia	Muestra (g)	Fórmula referencial
pH	Potenciométrico líquido	Willard <i>et al.</i> (1974), Bates (1983) (citados en Fernández <i>et al.</i> (2006))	5	—
% Humedad	Gravimétrico o de secado al Horno	Fernández <i>et al.</i> (2006); INEN 690 (1982); Llorcay Bautista. (2004)	2-10	% Humedad del suelo = (Peso del agua / peso de suelo seco)*100
% M.O.	Gravimétrico deducido de cenizas	INEN 1 492 (1986)	1	C = (Peso de la ceniza obtenida / peso de muestra original)*100; y MO = 100 - C
TPHs	Gravimétrico diseñado para el efecto	Fernández <i>et al.</i> (2006); Noriega <i>com. pers.</i> (2011)	5	HTP's (mg kg ⁻¹ de s.s.) = (RB - RA) * (FC) / (P * FH)
Textura	Prueba de tacto	Plastes (2005)	3-5	—
Color	Comparación en las tablas de colores de Munsell	Llorcay Bautista (2004)	2	—
% N	Correlación con la materia orgánica	LAB. AGROCALIDAD, Quito.	—	—
P	OLSEN	LAB. AGROCALIDAD, Quito.	—	—
K	Fotométrico de llama	LAB. AGROCALIDAD, Quito.	—	—

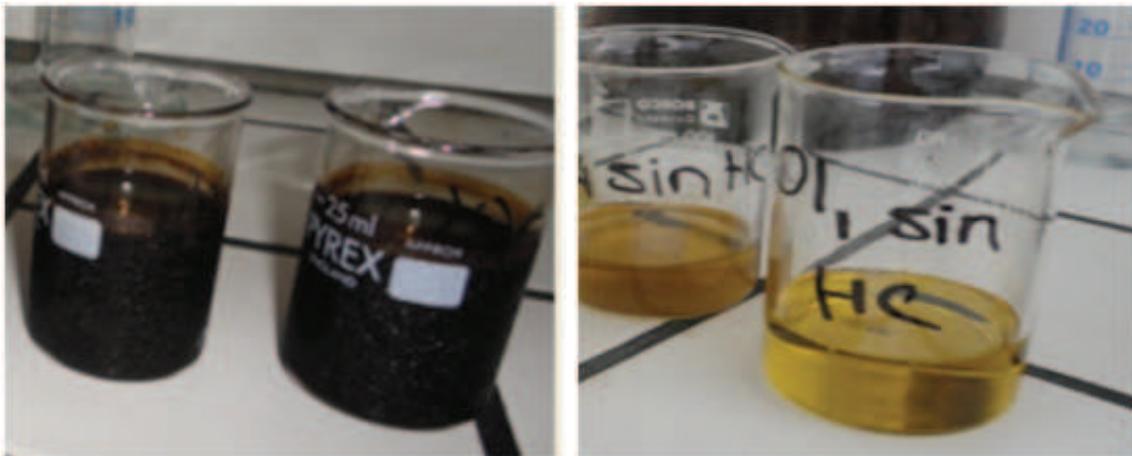


Figura 4. Extractos obtenidos de la determinación de TPHs en suelos de los tratamientos efectuados, marzo 2011. (Izq.) Extractos de las muestras de suelos contaminados con petróleo. (Der.) Extractos de las muestras de suelos contaminados con petróleo.

Tabla 4. Sitios de trabajo inicial y especies vegetales potencialmente bio-remediadoras.

Lugares identificados con derrames (ocurridos entre 2006-2010)	Coordenadas Geográficas UTM y altitud (msnm)	Año del último derrame de petróleo	Observaciones	Especies localizadas con mayor abundancia	Nombre común	Plantas seleccionadas para el experimento
Papallacta	17M 0812828, 9'959649; 3644 msnm.	2001	Fuera del límite temporal recomendado		no aplica	NO
Baeza	17M 0833678, 9'952985; 2292 msnm.	2009	Ecosistema en proceso de recuperación, apoyado por remediación de empresas locales	<i>Desmodium intortum</i>	Amor seco	NO
				<i>Mimosa polydactyla</i>	Dormidera	SI
				<i>Pennisetum cf. clandestinum</i>	Césped kikuyo	NO
				<i>Tessaria integrifolia</i>	Árbol de Olivo	NO
				<i>Pennisetum purpureum</i>	Pasto Elefante	NO
				<i>Verbena litoralis</i>	Verbena	SI
El Chaco: zona con petróleo estancado.	18M 0203610, 9'982261; 1285 msnm.	2009-2010	Estabilizado y controlado con geomembrana, pero a la intemperie	<i>Calopogonium mucunoides</i>	Calopo	NO
				<i>Mimosa polydactyla</i>	Dormidera	SI
				<i>Ludwigia peruviana</i>	Escobilla, Rosa de agua	SI
				<i>Pennisetum purpureum</i>	Pasto Elefante	NO
				<i>Tessaria integrifolia</i>	Árboles y plántulas de Olivo	SI
				<i>Verbena litoralis</i>	Verbena	SI
El Chaco: sector Piedra Fina	18M 0207384, 9'984542; 1225 msnm.	2008	En proceso de remediación por parte de Petroecuador	<i>Desmodium intortum</i>	Amor seco	NO
				<i>Mimosa polydactyla</i>	Dormidera	SI
				<i>Ludwigia peruviana</i>	Escobilla o Rosa de agua	SI
				<i>Tessaria integrifolia</i>	Plántulas de olivo	SI
				<i>Verbena litoralis</i>	Verbena	SI
				<i>Pennisetum purpureum</i>	Pasto Elefante	NO

Donde

$HTPs(mg/kgde\ s.s) =$ hidrocarburos totales del petróleo en mg/kgde suelo seco.

$RA =$ peso (mg) del recipiente vacío a peso constante.

$RB =$ peso (mg) del recipiente con el extracto orgánico concentrado.

$P =$ cantidad de suelo extraído (g).

$FH =$ factor de corrección de humedad ($1 - (\%humedad/100)$).

$FC =$ factor de transformación a kg de s.s. = 1.000.

2.7 Análisis estadístico

Para los datos obtenidos en campo en el monitoreo de individuos vegetales se aplicó la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov (Siegel, 1978), para evaluar los cambios de la altura de las plantas y número de hojas a lo largo del lapso de monitoreo; y para comparar los datos de concentración de TPHs en los diferentes suelos después del experimento se aplicó el Análisis de Varianza no Paramétrico de Kruskal-Wallis (Siegel, 1978) a las variables edáficas en suelos contaminados a 3 y 6 % con petróleo, con y sin individuos vegetales, y en presencia y ausencia del fertilizante.

3. Resultados y discusión

3.1 Determinación y obtención de individuos potencialmente biorremediadores

En la Tabla 4 se presentan las características de las zonas de trabajo, algunas especies vegetales locales y las especies de las cuales se tomaron individuos para el protocolo de investigación.

Los individuos con potencial de fitorremediación provinieron de zonas con derrames de hasta 4 años de antigüedad (sector de Cuyuja-Baeza: 1 derrame; y, sector de Piedra Fina-El Chaco: 2 derrames).

De las especies vegetales observadas se seleccionaron las que presentaron mayor abundancia de individuos en las zonas de los derrames: *Ludwigia peruviana*, *Mimosa polydactyla*, *Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis*, ya que se sospechó tenían mejores aptitudes como fitorremediadoras: un nivel apreciable de tolerancia (robustez y vigorosidad aparente) y mayor producción de biomasa (mayor tamaño).

3.2 Instalación del Invernadero

Se instaló en la comunidad San Luis, sector Piedra Fina, cantón El Chaco, provincia de Napo (Figuras 1 y 2). El sustrato fue de 416 kg de suelo local. Mientras que el contaminante utilizado fue 12,96 kg de petróleo. Se prepararon 72 bolsitas con sustrato correspondientes a 24 tratamientos (Tabla 1).

Luego, al trasplantar los individuos de las cuatro especies se observaron los cambios ocurridos en ellos, tanto en sustratos sin contaminación y con contaminación, para discriminar si había efectos producidos por el stress del trasplante o por efecto del petróleo en el sustrato (Tabla 5).

Tabla 5. Reporte de adaptabilidad al trasplante de los individuos vegetales en los tratamientos establecidos en el diseño experimental. (a) Proceso mediante el cual las plantas se acomodaron exitosamente y en forma relativamente rápida a las nuevas condiciones dadas.

Especies Recolectadas	Nº Plantas	Supervivencia de los individuos trasplantados (a)
<i>Ludwigia peruviana</i>	24	90 %
<i>Mimosa polydactyla</i>	24	80 %
<i>Tessaria integrifolia</i>	24	80 %
<i>Verbena litoralis</i>	24	75 %

A pesar de que el nivel de adaptación de las plantas fue ligeramente diferente entre ellas, al final del primer mes de trasplantadas, ningún individuo de ninguna especie murió. Al inicio se observó un ligero marchitamiento temporal sobre todo en *Ver-*

bená litoralis y *Mimosa polydactyla*. En cambio, *Ludwigia* peruviána resaltó por su capacidad pronta de adaptación, posiblemente por su condición de planta oportunista (Council, 2011).

El riego se realizó con intervalos de cuatro días al inicio de la investigación; y al notar síntomas por falta de agua (pérdida ligera de la turgencia de las hojas de algunas plantas, sobre todo en *Verbena litoralis*), el riego se realizó cada dos días (imitando lo que en la realidad sucede en este tipo de ambientes amazónicos).

3.3 Dinámica de fitorremediación

Ludwigia peruviána. Se detectaron crecimientos (altura) similares de las plantas en casi todos los tratamientos (Prueba de Kolmogorov-Smirnov, Tabla 6), lo cual quiere decir que no existió efecto alguno por parte del petróleo ni del fertilizante sobre las plantas; estos resultados coinciden con trabajos como el de Pérez *et al.* (2006), quienes determinan que existen plantas como la de tabaco que puede desarrollarse en suelos contaminados, y no mostrar síntomas visibles de afectación a su crecimiento en altura.

En el desarrollo de biomasa aérea (hojas) hubo diferencias significativas entre casi todas las comparaciones efectuadas (Tabla 7). La biomasa aérea fue mayor en los tratamientos sin contaminante, con o sin fertilizante; un ejemplo fue la comparación entre los tratamientos de 3 % de HC frente a 3 % de HC fertilizado, en el cual las plantas con mejor desarrollo foliar fueron las del tratamiento fertilizado. Un caso interesante fue la comparación de los tratamientos de 3 % de HC frente al de 6 % de HC fertilizado, este último tuvo mejor desarrollo, lo cual significa que la fertilización en el suelo tuvo una buena influencia sobre las plantas, ya que pudiera haber disminuido el efecto supresor del HC, permitiendo el aumento de la producción de biomasa aérea. Lo que permite inferir que una misma especie puede tolerar diferentes niveles de HC según tenga o no una adecuada disponibilidad de nutrientes (Luque, 2009).

Por otra parte, al observar la comparación de 3 % de HC frente al de 6 % de HC en ausencia de fertilizante las plantas con mejor desarrollo foliar fueron las de 3 %, sugiriendo un mayor efecto supresor de desarrollo foliar ejercido por una mayor concentración de petróleo en el suelo.

Tabla 6. Resultados del Análisis de Kolmogorov-Smirnov para la comparación entre los vectores de crecimiento (altura) de *Ludwigia peruviána* en los diferentes tratamientos. NS = No existen diferencias significativas entre los vectores comparados ($p > 0,05$). S = Si existe diferencias significativas entre los dos vectores ($p < 0,05$), $\alpha = 0,05$.

Vectores de crecimiento	<i>Ludwigia</i> sin cont.	<i>Ludwigia</i> 3 %	<i>Ludwigia</i> 6 %	<i>Ludwigia</i> sin cont. Fert.	<i>Ludwigia</i> 3 % Fert.	<i>Ludwigia</i> 6 % Fert.
<i>Ludwigia</i> sin cont.	—					
<i>Ludwigia</i> 3 %	NS	—				
<i>Ludwigia</i> 6 %	NS	NS	—			
<i>Ludwigia</i> sin cont. Fert.	NS	NS	NS	—		
<i>Ludwigia</i> 3 % Fert.	NS	NS	NS	S (crece mejor la sin cont. Fert.)	—	
<i>Ludwigia</i> 6 % Fert.	NS	NS	NS	NS	NS	—

Tabla 7. Resultados del Análisis de Kolmogorov-Smirnov para la comparación entre los vectores de desarrollo de la biomasa aérea (hojas) de *Ludwigia peruviana* en los diferentes tratamientos.

Vectores de crecimiento	<i>Ludwigia</i> sin cont.	<i>Ludwigia</i> 3 %	<i>Ludwigia</i> 6 %	<i>Ludwigia</i> sin cont. Fert.	<i>Ludwigia</i> 3 % Fert.	<i>Ludwigia</i> 6 % Fert.
<i>Ludwigia</i> sin cont.	—					
<i>Ludwigia</i> 3 %	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	—				
<i>Ludwigia</i> 6 %	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC)	—			
<i>Ludwigia</i> sin cont. Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	—		
<i>Ludwigia</i> 3 % Fert.	NS	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC, Fert.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC, Fert.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	—	
<i>Ludwigia</i> 6 % Fert.	S (se desarrolla mejor la Sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 6 % de HC, Fert.)	S (se desarrolla mejor la de 6 % de HC, Fert.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	S (se desarrolla mejor la 3 % de HC Fert.)	—

Entre los signos y síntomas relevantes luego de dos semanas del trasplante, tanto en plantas en sustratos con HC y sin HC, se registraron algunas hojas con amarillamiento (clorosis), en algunas enrollamiento foliar, puntas quemadas y algunas hojas y varias ramas secas. Síntomas causados primariamente por el efecto del trasplante y secundariamente por la contaminación según lo propuesto por Fojta *et al.* (2006) y Evangelou *et al.* (2006) (citados por Pérez *et al.* (2006)). Cabe mencionar que, pese a estos signos y síntomas ningún individuo murió, siendo *Ludwigia peruviana* la especie que sobresalió de las demás, pues siempre mantuvo hojas verdes con retoños continuos; mostrando mayor tolerancia visible a la contaminación. No hubo diferencia a nivel radicular entre los tratamientos.

En cuanto al análisis del contenido de Hidrocarburos totales de petróleo (TPHs) los resultados obtenidos en las dos pruebas de Kruskal-Wallis (una entre los tratamientos al 3 % de petróleo y otra entre los de 6 %). La Figura 6 y la Figura 5 denotaron que en ningún tratamiento hubo actividad fitorremediadora (absorción efectiva de HC).

Se puede concluir que la presencia de fertilizante tuvo un efecto notorio en el desarrollo de biomasa aérea de las plantas, pero no fue así en su crecimiento y la degradación de HC.

Con respecto a los resultados de determinación de una latente aunque débil actividad fitorremediadora pudiera ser necesario un mayor tiempo de observación de los tratamientos, pues como lo explica López (2008) una desventaja de la fitorremediación suele ser los largos períodos de tiempo para obtener resultados significativos.

Mimosa polydactyla. Sus individuos tuvieron crecimientos (altura) similares en todos los tratamientos, tanto en suelos contaminados como en suelos no contaminados, sin diferencias significativas; al igual que en *L. peruviana* esta planta demostró que también puede crecer en un suelo contaminado por petróleo y no mostrar síntomas visibles de afectación, lo cual indicaría una medida de la tolerancia de esta especie a tal condición.

En cuanto al desarrollo de su biomasa aérea presentó diferencias en casi todas las comparaciones efectuadas en los tratamientos (Tabla 8), destacándose con un mejor crecimiento los tratamientos: (1) con menor concentración de HC frente a los de mayor concentración y (2) los sin contaminación de HC frente a los contaminados. Por otro lado, en el caso del tratamiento sin contaminación frente al tratamiento sin contaminación pero fertilizado, se desarrollaron mejor las plantas sin fertilización; lo que

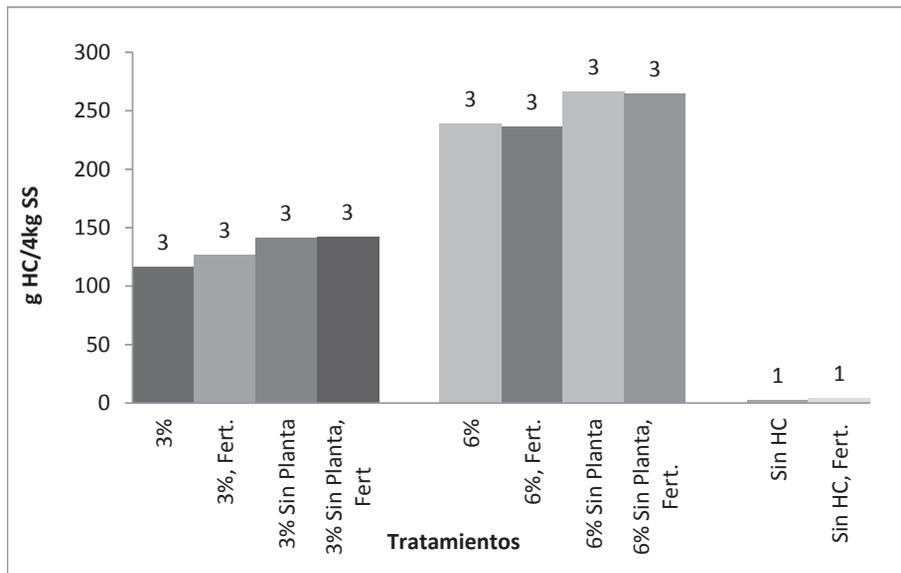


Figura 5. Medianas de concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPHs) al final del experimento en suelos contaminados y no contaminados, tratados con *Ludwigia peruviana*. 3%, 6%= suelo contaminado al 3% y 6% con petróleo, respectivamente. 3% Fert., 6% Fert.= suelo contaminado al 3% y 6% con petróleo, respectivamente y además fertilizados. Sin HC= suelo sin contaminación de Hidrocarburos de petróleo. Sin HC, Fert.= ídem, pero fertilizado. El tamaño de la muestra se observa sobre cada columna.

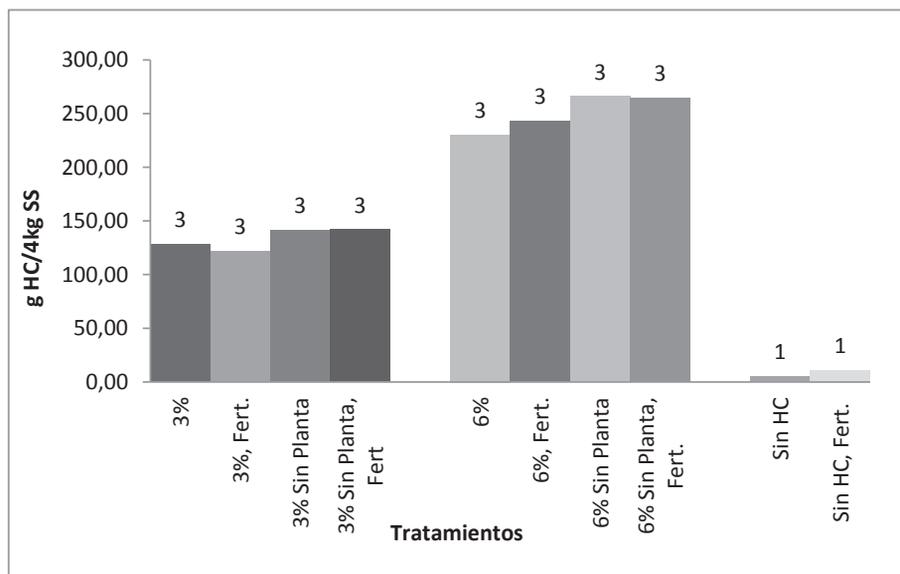


Figura 6. Medianas de concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPHs) al final del experimento en suelos contaminados y no contaminados, tratados con *Mimosa polydactyla*. 3%, 6%= suelo contaminado al 3% y 6% con petróleo, respectivamente. 3% Fert., 6% Fert.= suelo contaminado al 3% y 6% con petróleo, respectivamente y fertilizados. Sin HC= suelo sin contaminación de Hidrocarburos de petróleo. Sin HC, Fert.= ídem, pero fertilizado. El tamaño de la muestra se observa sobre cada columna.

estaría demostrando que el fertilizante utilizado no tuvo influencia sobre el desarrollo foliar (biomasa aérea) de las plantas, quizá debido a una reacción metabólica de esta especie, pues como lo explica González (2007) la intensidad de la captura de nutrientes va a depender de las necesidades de la planta (hambre metabólica) que se condiciona mediante la regulación bioquímica de los sistemas de captura, transferencia y asimilación de nutrientes en cada momento fisiológico de la misma.

Los signos y síntomas negativos que presentaron las plantas en todos los tratamientos (ligeramente acentuados en los tratamientos contaminados con petróleo) fueron: hojas con ligero amarillamiento, muchas secas y varias cayeron; varias ramas secas, 10 plantas murieron de las cuales 7 tenían contaminante y fertilizante y 1 en sustrato sin contaminante. Este efecto corrobora lo explicado anteriormente, evento también sugerido por González (2007), respecto al fertilizante en las plantas, pues expone que las cantidades en exceso (para esta especie por su particular metabolismo) de un nutriente puede convertir tal "exceso" en un tóxico, sumado a ello el efecto que el contaminante habría actuado sinérgicamente llevando a las plantas a un prematuro deceso. No hubo diferencias visibles a nivel radicular entre los tratamientos.

Las dos pruebas de Kruskal-Wallis corridas (entre los tratamientos sometidos al 3 % de contaminación y entre los tratamientos de 6 %) permiten inferir que estas plantas no mostraron actividad fitorremediadora (Figura 6).

Se debe, por tanto, mencionar que el fertilizante no tuvo un efecto importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Esta especie mostró poca tolerancia al contaminante (evidenciada en las plantas que murieron), ya otros investigadores como Luque (2009) enuncian que el petróleo suele ser en algunas especies el responsable de este suceso. Por tanto, esta especie queda descartada para posibles futuras investigaciones de fitorremediación, pues no cumple con lo sugerido por estudiosos del tema tal como Salt (1998), US EPA (2000), Harvey *et al.* (2001) y Davis *et al.* (2002) (citados por Peña *et al.* (2006)), quienes enuncian como condición primordial para el éxito de una especie fitorremediadora que tal especie debe ser tolerante y poder desarrollarse en un ambiente contaminado con TPH. El resultado obtenido para la presente especie es similar a lo obtenido por otros investigadores como en

el estudio realizado por Rivera *et al.* (2005) con leguminosas, las plantas de las especies de dormilona (*Mimosa sp.*) y zarza (*Mimosa pigra*) no lograron sobrevivir al efecto de la concentración experimental de petróleo (150.000 mg/kg HTP).

Tessaria integrifolia. El crecimiento de estas plantas fue en general similar en suelos contaminados y suelos no contaminados (Tabla 9). Lo que permite inferir que al parecer el petróleo no participó o no inhibió algunas reacciones fisiológicas básicas (y tampoco provocó síntomas visibles de afectación) de los individuos (Pérez *et al.*, 2006), puesto que no existen diferencias del crecimiento entre los tratamientos sin contaminación frente a los tratamientos con mayor concentración de petróleo (6 %); ni entre las plantas de los tratamientos sin contaminación con y sin fertilizante.

Sin embargo, existieron como excepción 2 comparaciones entre tratamientos (Tabla 9): (1) sin contaminación y sin fertilizante versus el de 3 % de HC y fertilizado, y (2) sin contaminación y sin fertilizante versus el tratamiento con 6 % de HC y fertilizado; en los cuales los tratamientos sin contaminación tuvieron un mejor crecimiento, tales excepciones indicarían que posiblemente la acción del fertilizante fue aplacado por efecto del petróleo en el sustrato, como también lo menciona Luque (2009) quien afirma que la presencia de HC puede reducir significativamente el aprovechamiento de los nutrientes, afectando más mientras mayor contaminación se tenga.

En cuanto a la biomasa aérea, todos los tratamientos presentaron un desarrollo diferente (Tabla 10), se observa que los tratamientos sin contaminación en presencia y ausencia de fertilizante tuvieron un mejor crecimiento que los tratamientos contaminados; por otra parte, en la comparación entre tratamientos contaminados tuvieron un mayor desarrollo aquellos en los que no se aplicó fertilizante, lo cual indicaría que de alguna manera el petróleo o algún factor desencadenado por su presencia pudiera estar contribuyendo en cierta manera al desarrollo de biomasa aérea, aunque éste no haya funcionado de manera sinérgica con el fertilizante aplicado, sino más bien sin él; esto pudiera explicarse debido a que algunas especies vegetales pueden tener respuestas complejas ante la presencia de un contaminante hidrófobo o hidrófilo y pueden responder de diversas maneras a sus efectos (Peña *et al.*, 2006).

Tabla 8. Resultados del Análisis de Kolmogorov-Smirnov para la comparación entre los vectores de desarrollo de la biomasa aérea (hojas) de *Mimosa polydactyla* en los diferentes tratamientos.

Vectores de desarrollo	<i>Mimosa</i> sin cont.	<i>Mimosa</i> 3 %	<i>Mimosa</i> 6 %	<i>Mimosa</i> sin cont. Fert.	<i>Mimosa</i> 3 % Fert.	<i>Mimosa</i> 6 % Fert.
<i>Mimosa</i> sin cont.	—					
<i>Mimosa</i> 3 %	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	—				
<i>Mimosa</i> 6 %	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de hidrocarburos (HC))	—			
<i>Mimosa</i> sin cont. Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	—		
<i>Mimosa</i> 3 %Fert.	NS	S (se desarrolla mejor la 3 % de HC, Fert.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC, Fert.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	—	
<i>Mimosa</i> 6 % Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC)	S (se desarrolla mejor la 6 % de HC.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC, Fert.)	—

Tabla 9. Resultados del Análisis de Kolmogorov-Smirnov para la comparación entre los vectores de crecimiento (altura) de *Tessaria integrifolia* en los diferentes tratamientos.

Vectores de crecimiento	<i>Tessaria</i> sin contaminación	<i>Tessaria</i> 3 %	<i>Tessaria</i> 6 %	<i>Tessaria</i> sin cont. Fert.	<i>Tessaria</i> 3 % Fert.	<i>Tessaria</i> 6 % Fert.
<i>Tessaria</i> sin cont.	—					
<i>Tessaria</i> 3 %	NS	—				
<i>Tessaria</i> 6 %	NS	NS	—			
<i>Tessaria</i> sin cont. Fert.	NS	NS	NS	—		
<i>Tessaria</i> 3 % Fert.	S (crece mejor la sin cont.)	NS	NS	NS	—	
<i>Tessaria</i> 6 % Fert.	S (crece mejor la sin cont.)	NS	NS	NS	NS	—

Tabla 10. Resultados del Análisis de Kolmogorov-Smirnov para la comparación entre los vectores de desarrollo de la biomasa aérea (hojas) de *Tessaria integrifolia* en los diferentes tratamientos.

Vectores de desarrollo	<i>Tessaria</i> sin cont.	<i>Tessaria</i> 3 %	<i>Tessaria</i> 6 %	<i>Tessaria</i> sin cont. Fert.	<i>Tessaria</i> 3 % Fert.	<i>Tessaria</i> 6 % Fert.
<i>Tessaria</i> sin cont.	—					
<i>Tessaria</i> 3 %	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	—				
<i>Tessaria</i> 6 %	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 6 % de hidrocarburos (HC))	—			
<i>Tessaria</i> sin cont. Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fertilizada)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fertilizada)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fertilizada)	—		
<i>Tessaria</i> 3 % Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC)	S (se desarrolla mejor la de 6 % de HC)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	—	
<i>Tessaria</i> 6 % Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC)	S (se desarrolla mejor la 6 % de HC)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	S (se desarrolla mejor la de 6 % de HC, Fert.)	—

Los signos y síntomas que presentaron las plantas en todos los tratamientos (ligeramente acentuados en los tratamientos contaminados con petróleo) fueron: hojas con amarillamiento de ligero a severo, puntas quemadas, unas pocas secas, y otras pocas amorfas, en algunas hubo perforaciones causadas por insectos. Finalmente, 5 plantas murieron, 4 de ellas en condiciones de fertilización, aunque es importante aclarar que estos decesos fueron por causas accidentales en el invernadero (exceso de humedad por rotura del plástico de invernadero). Además, fue visible que las plantas en los tratamientos sin hidrocarburos tuvieron mejor desarrollo aparente que las que se encontraban en sustratos contaminados, un claro indicio de ello fue el color más verde y brillante y mejor tamaño de las hojas.

Las dos pruebas de Kruskal-Wallis (una entre los tratamientos al 3 % y otra entre los de 6 %; Figura 7, Tabla 11) demostraron actividad fitorremediadora en esta especie "a bajas concentraciones de petróleo" (3 %) y con aplicación de fertilizante (Figura 7).

Por tanto, cabe mencionar que el fertilizante no tuvo un aporte importante para el crecimiento, ni para el desarrollo de las plantas, pudiendo haber actuado de manera neutra y/o entorpecida por el petróleo, debido a lo propuesto por Luque (2009) quien menciona que los HC pueden reducir sig-

nificativamente el aprovechamiento de los nutrientes (el fertilizante). Sin embargo, esto no sucede en cuanto a la degradación de HC, puesto que en cuanto a este parámetro, según los resultados de las pruebas aplicadas, el fertilizante fue útil en la captura y degradación de HC por parte de las plantas, en especial cuando el contaminante se encontraba en menores concentraciones. En estudios como el de Olguín *et al.* (2007) se explica que la razón de las diferentes respuestas de las especies a los hidrocarburos no es clara y pudiera deberse a diversos factores tales como a diferentes rutas bioquímicas de degradación de los hidrocarburos, así como diferencias en la tolerancia a condiciones anaeróbicas de las raíces cubiertas por las capas grasosas del petróleo; también menciona que la especie que más altas concentraciones de hidrocarburos acumuló, consecuentemente tuvo una inhibición mayor del crecimiento en relación a otras especies. De esta manera, resulta necesario, en lo que se refiere a esta especie, ampliar el tiempo de tratamiento para confirmar si *Tessaria integrifolia* es fitorremediadora a mayores concentraciones que 3 %, tal vez esta especie por encontrarse bien adaptada a zonas húmedas y a suelos arenosos de orillas de ríos locales, podría desempeñarse de una manera adecuada como planta útil para efectuar procesos de rizofiltración de acuerdo al esquema propuesto por López *et al.* (2005).

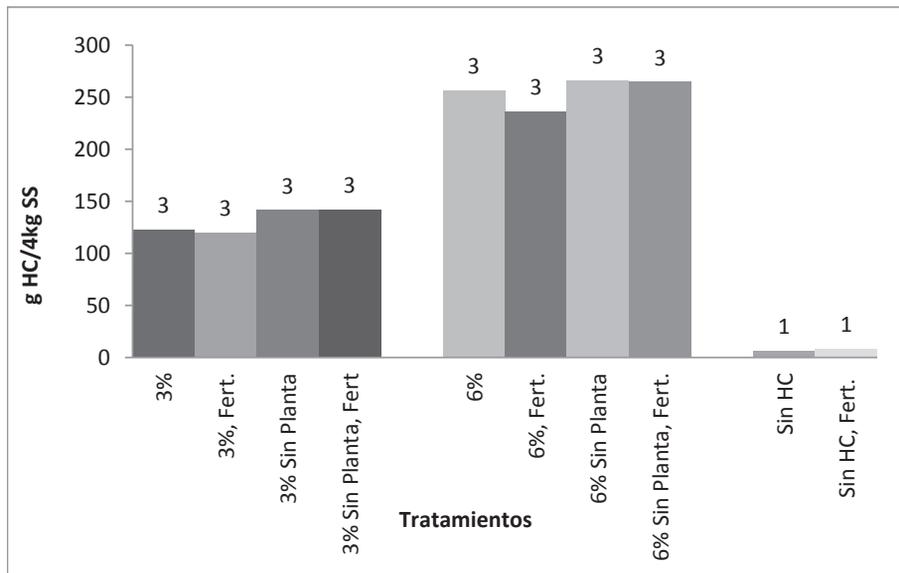


Figura 7. Medianas de concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPHs) al final del experimento en suelos contaminados y no contaminados, tratados con *Tessaria integrifolia*.

Tabla 11. Resultados de la Prueba de Kruskal-Wallis en la comparación de los valores de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPHs) en suelo tratado con *Tessaria integrifolia*.

<i>Tessaria integrifolia</i> con contaminación al 3 %							
N° de Muestra	Tratamientos			H	P	Hipótesis	Conclusiones
	Sin planta	Con planta, sin medio Fertilizado	Con planta, con medio Fertilizado				
Cantidad deTPH (g TPHs /4kg suelo)							
1	148.3	122.5	119.7	6.49	0.039	Existe al menos un tratamiento que muestra diferencias significativas en la cantidad de TPHs.	La cantidad de TPHs en el grupo de Plantas con medio Fertilizado fue significativamente menor al grupo de tratamientos Sin Planta.
2	134.2	134.9	111.3				La cantidad de TPHs en el grupo de Plantas sin Fertilizante no fue diferente al tratamiento Sin Planta.
3	141.9	122.8	121.1				
<i>Tessaria integrifolia</i> con contaminación al 6 %							
1	264.3	256.4	230.9	3.23	0.20	No existe diferencia entre tratamientos	—
2	267.9	272.2	240.9				—
3	264.3	213.3	236.0				—

Verbena litoralis. Con respecto al crecimiento, esta es la especie que más diferencias significativas tuvo, la característica más notoria fue en las comparaciones de los tratamientos: (1) sin contaminación ferti-

lizado frente a sin contaminación sin fertilizante y (2) sin contaminación fertilizado frente a tratamientos contaminados con y sin fertilizante (Tabla 12): los tratamientos sin contaminación y fertilizados crecie-

ron mejor. Revelando que la fertilización fue una condición que mejoró en esta especie el crecimiento de las plantas cuando estas no tuvieron contaminante.

En cuanto a la evolución de biomasa aérea (hojas) se observa que los tratamientos (Tabla 13) sin

contaminación tuvieron un mejor desarrollo foliar frente a los tratamientos con contaminación. El contaminante en esta especie aparentemente está suprimiendo el desarrollo foliar e inhibe la acción del fertilizante aplicado, no produjo un desarrollo significativo mayor de la biomasa aérea.

Tabla 12. Resultados del Análisis de Kolmogorov-Smirnov para la comparación entre los vectores de crecimiento (altura) de *Verbena litoralis* en los diferentes tratamientos.

Vectores de crecimiento	<i>Verbena</i> sin contaminación	<i>Verbena</i> 3 %	<i>Verbena</i> 6 %	<i>Verbena</i> sin cont. Fert.	<i>Verbena</i> 3 % Fert.	<i>Verbena</i> 6 % Fert.
<i>Verbena</i> sin cont.	—					
<i>Verbena</i> 3 %	NS	—				
<i>Verbena</i> 6 %	NS	NS	—			
<i>Verbena</i> sin cont. Fert.	S (crece mejor la sin cont. Fert.)	S (crece mejor la sin cont. Fert.)	S (crece mejor la sin cont. Fert.)	—		
<i>Verbena</i> 3 % Fert.	NS	NS	NS	S (crece mejor la sin cont. Fert.)	—	
<i>Verbena</i> 6 % Fert.	NS	NS	NS	S (crece mejor la sin cont. Fert.)	NS	—

Tabla 13. Resultados del Análisis de Kolmogorov-Smirnov para la comparación entre los vectores de desarrollo de la biomasa aérea (hojas) de *Verbena litoralis* en los diferentes tratamientos.

Vectores de crecimiento	<i>Verbena</i> sin cont.	<i>Verbena</i> 3 %	<i>Verbena</i> 6 %	<i>Verbena</i> sin cont. Fert.	<i>Verbena</i> 3 % Fert.	<i>Verbena</i> 6 % Fert.
<i>Verbena</i> sin cont.	—					
<i>Verbena</i> 3 %	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	—				
<i>Verbena</i> 6 %	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de hidrocarburos (HC))	—			
<i>Verbena</i> sin cont. Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fertilizada)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	—		
<i>Verbena</i> 3 % Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	NS	NS	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	—	
<i>Verbena</i> 6 % Fert.	S (se desarrolla mejor la sin cont.)	S (se desarrolla mejor la de 3 % de HC)	NS	S (se desarrolla mejor la sin cont. Fert.)	NS	—

En lo referente a signos y síntomas generales, la mayoría de los individuos en todos los tratamientos presentaron hojas con amarillamiento, perforaciones, puntas quemadas, varias se secaron, algunas se tornaron de color violáceo; en algunas plantas se secaron los tallos, aunque retoñaron nuevas ramitas y hojas, finalmente solo 2 plantas murieron (una con 3 % de HC y otra con 6 % de HC, las dos en medios sin fertilización).

Esta especie aparentemente tuvo una menor tolerancia inicial a los contaminantes, pues la mayoría de sus hojas se secaban más rápidamente en suelos contaminados, aunque con el tiempo rebrotaron hojas; esto concuerda con lo reportado por Olguín *et al.* (2007), quienes encontraron comportamientos similares en plantas de manglares.

Mediante la aplicación de la prueba de Kruskal-Wallis se pudo concluir que *Verbena litoralis* tiene una actividad fitorremediadora leve, “a bajas concentraciones de petróleo” (3 %) y con aplicación de una baja cantidad de fertilizante (Figura 8, Tabla 14).

El fertilizante tuvo un aporte importante para el crecimiento de las plantas sin contaminación, aunque este fue inhibido por los HC en los tratamientos contaminados, al igual que el desarrollo foliar. En la degradación de HC el fertilizante fue útil en la fun-

ción fitorremediadora de las plantas solo cuando los suelos tuvieron concentraciones menores de petróleo, siendo necesario para *V. litoralis* (al igual que en *T. integrifolia*) ampliar el tiempo de tratamiento para confirmar si es buena fitorremediadora a mayores concentraciones.

4. Consideraciones generales

En general en todos los tratamientos contaminados, al inicio del ensayo, las raíces de las plantas de todas las especies tuvieron contacto parcial con el sustrato con petróleo; cinco meses después, al finalizar el ensayo, se observó que las raíces de todas las plantas se habían desarrollado incluso hasta la base del sustrato; sin embargo, las raíces que se destacaron en su crecimiento fueron las de *Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis* (plantas que consideramos con buenas características fitorremediadoras), aunque en su parte aérea tendieron a secarse algo más que en *Ludwigia peruviana* y *Mimosa polydactyla* (no fitorremediadoras), situación también reportada por investigadores como Olguín *et al.* (2007) quienes indican que las plantas fitorremediadoras al absorber los HC de petróleo gracias a un mejor desarrollo de sus raíces, evidencian un efecto opuesto del contaminante debido al deterioro de su parte aérea.

Tabla 14. Resultados de la Prueba de Kruskal-Wallis en la comparación de los valores de TPHs en suelo tratado con *Verbena litoralis*.

<i>Verbena litoralis</i> con contaminación al 3 %							
N° de Muestra	Tratamientos			H	P	Hipótesis	Conclusiones
	Sin planta	Con planta, sin medio Fertilizado	Con planta, con medio Fertilizado				
Cantidad deTPH (g TPHs /4kg suelo)							
1	148.3	116.9	125.2	6.489	0.039	Existe al menos un tratamiento que muestra diferencias significativas en la cantidad de TPHs.	La cantidad de TPHs en el grupo de Plantas con medio Fertilizado fue significativamente menor al grupo de tratamientos Sin Planta.
2	134.3	122.8	122.3				La cantidad de TPHs en el grupo de Plantas sin Fertilizante no fue diferente al tratamiento Sin Planta.
3	141.9	119.9	123.5				
<i>Verbena litoralis</i> con contaminación al 6 %							
1	264.3	258.3	234.2	4.66	0.097	No existe diferencia entre tratamientos	—
2	267.9	264.2	240.7				—
3	264.3	269.6	259.7				—

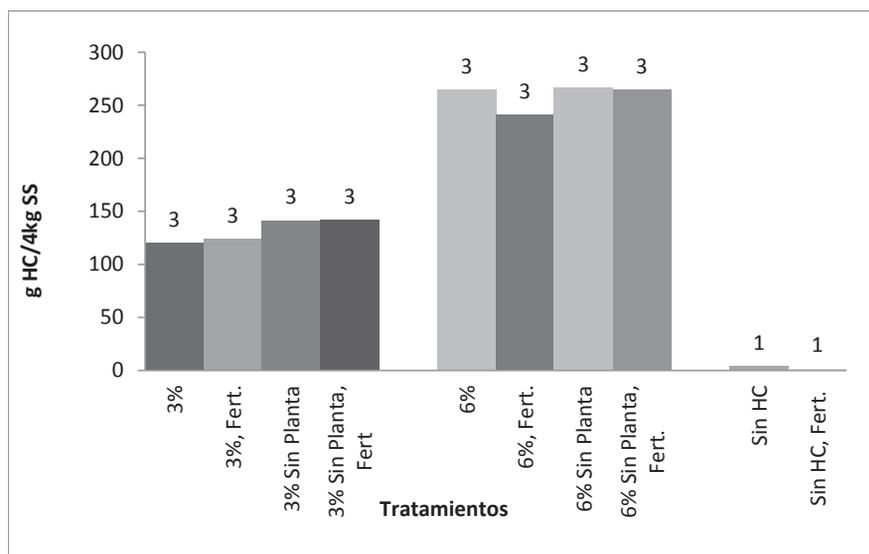


Figura 8. Medianas de concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPHs) al final del experimento en suelos contaminados y no contaminados, tratados con *Verbena litoralis*.

En Mujica *et al.* (2006) se mencionan que hay una tendencia general a disminuir los caracteres relacionados con el crecimiento en la medida que aumenta la concentración de petróleo; sin embargo, consideran posible mediante la utilización de ciertos cultivos la recuperación de suelos contaminados con bajos niveles de petróleo.

Con respecto a lo sucedido con las plantas de las cuatro especies en la presente investigación, se puede mencionar que la contaminación por HC afectó el desarrollo de las plantas debido a diferentes efectos físicos y bioquímicos; pues películas de aceite pueden haber cubierto las raíces modificando la absorción normal de agua y nutrientes; adicionalmente, si los HC logran penetrar el tejido de las plantas podrían dañar la membrana de las células causando pérdida de su contenido, bloqueo de los espacios intercelulares y reducción del transporte de metabolitos, así como de las tasas de respiración y fotosíntesis, según lo reportado por otros investigadores (Pezeshki *et al.* (2000), citados por Mujica *et al.* (2006)).

4.1 Conclusiones y recomendaciones

El potencial de fitorremediación de las especies estudiadas se confirmó solo en dos de las cuatro analizadas (*Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis*), se recomienda en futuros estudios realizar este ensayo o uno similar con otras especies locales pero con más repeticiones por tratamiento.

Tessaria integrifolia, especie arbórea, y la especie herbácea *Verbena litoralis* mostraron mejor capacidad fitorremediadora con la adición de fertilizante en el suelo y a bajas concentraciones (3%) de petróleo, puesto que en el ensayo degradaron el petróleo en forma significativa respecto a las demás especies ensayadas y a las demás condiciones dadas. Pese a la apariencia de los individuos de estas especies.

La determinación de HTPs a través del análisis gravimétrico reflejó adecuadamente la degradación de los HC en el sustrato y en el desempeño de la fitorremediación. Se recomienda en futuros estudios realizar otras determinaciones que reflejen el comportamiento de los componentes hidrocarbúricos durante el proceso degradativo, tales como la determinación de Hidrocarburos livianos (C6 a C40), fracciones determinadas por el método SARA, PAH's y la evolución cromatográfica de los *n*-alcanos a través del tiempo.

El comportamiento diferencial en los tratamientos fertilizados respecto a los no fertilizados, evidenciada en una levemente mayor biodegradación de los HC, justificaría la necesidad de aportar nutrientes al medio durante el proceso de fitorremediación.

Consideramos que el tratamiento realizado resultó un enfoque adecuado para la descontaminación de los suelos con concentraciones bajas de HC de petróleo, pero se requeriría necesariamente de un período mayor de aplicación del procedimiento, tal

vez más de un año, para reducir la concentración de los HC a valores menores a los fijados por el RAOHE (Ministro de Energía y Minas, 2001).

En condiciones similares a los de este ensayo la implementación de la fitorremediación se considera como una tecnología eficiente ya que a través del crecimiento de plantas *Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis* sobre suelos contaminados se permitiría la producción de una biomasa suficiente para la fitodegradación gradual en un período de tiempo más prolongado.

Así, la respuesta mostrada por *T. integrifolia* y *V. litoralis* las muestra como especies a ser tenidas en cuenta para restaurar ambientes contaminados con petróleo en zonas amazónicas de Ecuador ubicados entre 500 a 200 msnm, abriéndose también la posibilidad de realizar ensayos de campo mas minuciosos en sitios con derrames relativamente antiguos de petróleo; o a su vez que estas especies sean utilizadas como complementarias a las técnicas de remediación químicas y físicas tradicionales.

Referencias

- Council, S. 2011. **Environmental Services Sydney, WeedFactSheet, Ludwigia peruviana**. URL <http://www.strathfield.nsw.gov.au/system/files/f2/f36/f37/o462//WEED%20INFORMATION%20SHEET%20-%20Ludwigia%20peruviana.pdf>.
- Davis, L., S. Castro, Q. Zhang y L. Erickson. 2002. **Benefits of vegetation for soils with organic contaminants**. Crit. Rev. Plant Sci., 21: 457-491.
- Fernández, L., N. Roja, T. Roldán, M. Ramírez, H. Zegarra, R. Uribe, R. Reyes, D. Flores y M. Arce. 2006. **Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados**. Instituto Mexicano del Petróleo, Secretaría de Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, México, URL http://api.ning.com/files/g57QSoJaXEU0xqoxNrO1X6TWiL14opm9lzYkCIH9m70Tlbncl-YhRmf9svcV08pSAfsl4fQRisjFZHBxwYUvwwBnxTITo*x/ManualContaminacionSuelos.pdf, consulta: 17 de mayo de 2010.
- González, S. 2007. **La planta y sus nutrientes 3: Conceptos de necesidad y toxicidad**. Publicado por Juan José Ibáñez el 30 enero, URL <http://www.madrimasd.org/blogs/universo/2007/01/30/58366>, consulta: 15 de octubre de 2011.
- Harvey, P., B. Campanella, P. Castro, H. Harms, E. Lichtfouse, A. R. Schaeffner, S. Smrcek y D. Werck-Reichhart. 2001. **Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols**. Environ. Sci. Pollut., 9: 29-47.
- Ibáñez, J. 2006. **Procesos de contaminación de suelos y tecnologías de remediación (vi).técnicas biológicas. fitorremediación**. URL <http://www.madrimasd.org/blogs/universo/2006/10/24/47660>, consulta: el 20 de mayo de 2010.
- INEN. 1982a. **Mecánica de suelos determinación del contenido de agua, método de sacado al Horno**. Ecuador.
- INEN. 1982b. **Mecánica de suelos preparación de muestras alteradas para ensayos**. INEN 688, 1982-05, Ecuador.
- INEN. 1986. **Productos de petróleo. Determinación de cenizas**. INEN 1 492, 1986-11, Ecuador.
- ITRC. 2001. **Phytotechnology. technical and regulatory guidance document**. URL http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbt/maqueda_g_ap/indice.html.
- Jones, D. 2010. **Producción de petróleo en Ecuador cae 4 % en primer semestre de este año**. URL <http://www.americaeconomia.com/negocios-industrias/produccion-de-petroleo-en-ecuador-cae-4-en-primer-semestre-de-este-ano>.
- Llorca, R. y B. I. 2004. **Prácticas de atmósfera, suelo y agua**. Editorial Alfaomega, México D.F., págs. 51, 75-76.
- López, S. 2008. **Expresión de la actividad enzimática de citocromo p450 en una planta (cyperuslaxus) fitorremediadora de suelos contaminados por hidrocarburos**. Proyecto Fin de Carrera, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa División de Ciencias Biológicas y de la Salud, URL <http://tesiuami.izt.uam.mx/uam/aspum/presentatesis.php?recno=14278&docs=UAMI14278.PDF>.

- López, S. M. G., L. Pérez y M. Gutiérrez. 2005. **Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas.** Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 21: 91–100, URL <http://www.docstoc.com/docs/38366395/Revista-Internacional-de-Contaminacion%C3%B3n-Ambiental--Mecanismos-de>.
- Luque, J. 2009. **Desempeño de cuatro especies vegetales para fitorremediar suelos contaminados con hidrocarburos en la patagonia.** Proyecto Fin de Carrera, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Trelew, Argentina, URL http://www.inta.gov.ar/chubut/info/documentos/suelos_luque/Fitorremediacion%C3%B3n-suelos-contaminados.pdf.
- Maqueda, A. 2003. **Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados.** Proyecto Fin de Carrera, Universidad de las Américas, Puebla. México, URL http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbt/maqueda_g_ap/indice.html.
- Mendoza, M. y M. Gómez. 2002. **La biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos.** Teorema Ambiental, Revista Técnico Ambiental, URL <http://www.teorema.com.mx/contaminacion/biorremediacion-de-suelos-contaminados-con-hidrocarburos/>.
- Ministerio de Energía y Minas. 2001. **Reglamento Sustitutivo del Reglamento Ambiental para las Operaciones Hidrocarburíferas en el Ecuador RAOHE, Decreto No. 1215, publicado en el Registro Oficial No. 265 de 13 de Febrero de 2001. Instructivo para la Calificación y Registro de Consultores Ambientales Hidrocarburíferos, Cap. XII Límites Permisibles.** URL <http://es.scribd.com/doc/59394617/reglamento1215-RAOHE>.
- Mujica, C., J. Méndez y F. Pino. 2006. **Crecimiento de plántulas de frijol (*vigna unguiculata* (L.) walp) en dos suelos contaminados con petróleo.** Revista Tecnológica ESPOL, 19(1): 17–24.
- Olguín, E., M. Hernández y G. Sánchez. 2007. **Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y restauración.** Rev. Int. Contam. Ambient, 23 (3): 139–154, URL http://www.atmosfera.unam.mx/editorial/rica/acervo/vol_23_3/4.pdf.
- Ortiz, C. 2004. **Plantas que limpian el ambiente: Aplicaciones de la fitorremediación en Chile.** Revista de Bioquímica PUCV Online, Chile, 5: 8–11, URL <http://www.bioquimica.ucv.cl/documentos/revista/revista%20n5.pdf>.
- Peña, J., B. Barrera, R. Ruiz y B. Xocostle. 2006. **Bases moleculares de la fitorremediación de hidrocarburos totales del petróleo.** Redalyc Sistema de Información Científica Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. TERRA Latinoamericana, 24(4): 529–539, URL <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/573/57324411.pdf>.
- Pezeshki, S., M. Hester, Q. Lin y J. Nyman. 2000. **The effects of oil spill and clean up on dominant us gulf coast marsh macrophytes: A review environ pollut.** págs. 129–139.
- Pérez, J., I. Castillo y D. Paz. 2006. **Asimilación de cadmio y plomo por tabaco cv. "criollo 98" en un suelo contaminado artificialmente. parte i: características morfológicas de la planta.** Revista Centro Agrícola, págs. 47–53.
- Rivera, M., A. Trujillo, A. Miranda y E. Maldonado. 2005. **Evaluación toxicológica de suelos contaminados con petróleos nuevo e intemperizado mediante ensayos con leguminosas.** Interciencia, 30: 326–331.
- Saad, I., J. Castillo y D. Rebolledo. 2009. **Fitorremediación: estudio de inteligencia tecnológica competitiva.** Universidad Nacional Autónoma de México, URL http://octi.guanajuato.gob.mx/sinnco/formulario/MT/MT2009/MT2/SESION4/MT24_MSAAD_041.pdf.
- Salt, R. S. e. I. R., D. 1998. **Phytoremediation.** Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 49: 643–668.
- Siegel, S. 1978. **Estadística No Paramétrica para Ciencias de la Conducta.** Litográfica INGRAMEX.
- Silva, S. 2010. **Explotación petrolera en Ecuador.** GYT. Reuters América Latina. URL

(<http://lta.reuters.com/article/businessNews/idLTASIE6AN03020101124?sp=true>).
 USEPA (US Environmental Protection Agency). 2000. **Introduction to phytoremediation**.
 US EPA. 2000. **Introduction to Phytoremediation EPA/600/R-99/107, U.S. Environmental Protection Agency**. National Risk Management Research Laboratory, URL (http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbt/maqueda_g_ap/indice.html).
 Vogliano, S. 2009. **Extracción petrolera en la Amazonía. Proyecto Cultura y Ambiente, Conflictos Socioecológicos, Combustibles fósiles**. URL (http://www.fuhem.es/media/ecosocial/image/culturambiente/fichas/ECUADOR_combustibles_n22.pdf).

Anexos

Resumen de resultados de análisis edáficos finales.

Especies y tratamientos	Métrica	pH	% M.O.	% Humedad	% N	P (ppm)	K (Cmol/kg)	g TPH en 4 kg Suelo Seco	
<i>Ludwigia peruviana</i>	sin HC	\bar{x}	6.41	9.49	4.82	0.24	2.00	0.15	2.39
		D.E	0.58	0.07	0.07	0.00	0.00	0	-
		<i>n</i>	2	2	2	2	2	2	1
	3% de HC	\bar{x}	5.97	14.14	7.28	0.36	1.00	0.2	116.26
		D.E	0.09	2.54	3.19	0.16	0.00	3.399E-17	0.52
		<i>n</i>	3	3	3	3	3	3	3
	6% de HC	\bar{x}	5.95	16.00	6.04	0.30	1.00	0.2	236.39
		D.E	0.08	2.54	2.76	0.14	0.00	3.399E-17	21.41
		<i>n</i>	3	3	3	3	3	3	3
	sin HC, Fertilizada	\bar{x}	6.05	12.38	6.82	0.34	5.00	0.20	4.06
		D.E	0.58	0.33	0.01	0.00	0.00	0.006	-
		<i>n</i>	2	2	2	2	2	2	1
	3% de HC Fertilizada	\bar{x}	5.94	18.03	11.86	0.59	1.00	0.15	133.53
		D.E	0.10	3.72	5.56	0.28	0.00	0.00	25.12
		<i>n</i>	3	3	3	3	3	3	3
	6% de HC Fertilizada	\bar{x}	5.83	18.01	9.81	0.49	1.00	0.15	235.41
		D.E	0.11	4.54	6.30	0.31	0.00	0.00	9.44
		<i>n</i>	3	3	3	3	3	3	3
<i>Mimosa polydactyla</i>	sin HC	\bar{x}	5.99	13.04	8.58	0.43	1.00	0.25	4.99
		D.E	0.19	5.17	5.95	0.30	0.00	0.00	-
		<i>n</i>	2	2	2	2	2	2	1
	3% de HC	\bar{x}	5.94	20.93	13.30	0.82	1.00	0.20	130.45
		D.E	0.10	3.79	5.86	0.29	0.00	3.399E-17	8.05
		<i>n</i>	3	3	3	3	3	3	3
	6% de HC	\bar{x}	6.01	24.34	17.96	0.90	1.00	0.15	236.15
		D.E	0.13	0.24	1.10	0.05	0.00	0.00	13.28
		<i>n</i>	3	3	3	3	3	3	3
	sin HC, Fertilizada	\bar{x}	5.51	11.48	9.14	0.47	2.00	0.20	11.15
		D.E	0.60	0.70	3.66	0.18	0.00	0.00	-
		<i>n</i>	2	2	2	2	2	2	1
	3% de HC Fertilizada	\bar{x}	5.94	19.96	15.38	0.77	1.00	0.20	119.04
		D.E	0.08	6.94	9.81	0.49	0.00	3.399E-17	13.81
		<i>n</i>	3	3	3	3	3	3	3
	6% de HC Fertilizada	\bar{x}	6.04	17.94	8.40	0.42	1.00	0.15	237.28
		D.E	0.03	2.64	3.65	0.18	0.00	0.00	24.04
		<i>n</i>	3	3	3	3	3	3	3

Continúa en la siguiente página...

...viene de la página anterior

Especies y tratamientos	Métrica	pH	% M.O.	% Humedad	% N	P (ppm)	K (Cmol/kg)	g TPH en 4 kg Suelo Seco		
<i>Tessaria integrifolia</i>	sin HC	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.34 0.58 2	19.49 3.24 2	9.45 0.87 2	0.47 0.04 2	10.00 0.00 2	0.25 0.00 2	6.21 — 1	
	3 % de HC	\bar{x} D.E <i>n</i>	6.01 0.14 3	24.10 1.20 3	20.94 2.25 3	1.05 0.11 3	1.00 0.00 3	0.20 3.399E-17 3	126.72 7.05 3	
	6 % de HC	\bar{x} D.E <i>n</i>	6.05 0.10 3	19.05 3.63 3	10.98 5.17 3	0.55 0.26 3	1.00 0.00 3	0.20 0.00 3	254.08 30.44 3	
	sin HC, Fertilizada	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.37 0.001 2	22.32 7.49 2	16.94 8.14 2	0.85 .41 2	1.00 0.00 2	0.20 0.00 2	8.14 — 1	
	3 % de HC Fertilizada	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.98 0.15 3	24.72 2.03 3	22.32 3.31 3	1.12 0.17 3	1.00 0.00 3	15.00 0.00 3	117.36 5.27 3	
	6 % de HC Fertilizada	\bar{x} D.E <i>n</i>	6.06 0.008 3	24.19 1.82 3	17.88 2.79 3	0.89 0.14 3	1.00 0.00 3	0.20 3.399E-17 3	236.94 4.98 3	
	<i>Verbena litoralis</i>	sin HC	\bar{x} D.E <i>n</i>	6.17 0.30 2	14.36 4.40 2	11.13 5.79 2	0.57 0.29 2	2.00 0.00 2	0.15 0.00 2	4.23 — 1
		3 % de HC	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.89 0.07 3	20.24 6.05 3	15.72 8.84 3	0.79 0.44 3	1.00 0.00 3	0.20 3.399E-17 3	119.83 2.93 3
		6 % de HC	\bar{x} D.E <i>n</i>	6.01 0.17 3	23.55 1.95 3	16.86 3.15 3	0.84 0.16 3	1.00 0.00 3	0.15 0.00 3	264.04 5.69 3
		sin HC, Fertilizada	\bar{x} D.E <i>n</i>	6.00 0.32 2	18.09 4.11 2	15.46 5.40 2	0.77 0.27 2	2.00 0.00 2	0.15 0.00 2	1.49 — 1
		3 % de HC Fertilizada	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.95 0.007 3	22.94 4.26 3	19.00 6.87 3	0.95 0.34 3	1.00 0.00 3	0.20 3.399E-17 3	123.74 2.00 3
		6 % de HC Fertilizada	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.96 0.21 3	23.61 2.16 3	18.11 2.84 3	0.91 0.14 3	1.00 0.00 3	0.25 0.00 3	245.71 13.24 3
	Sin Planta	3 % de HC	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.86 0.01 2	16.68 0.46 2	10.13 0.83 2	0.51 0.04 2	1.00 0.00 2	0.20 0.00 2	141.26 9.94 2
		6 % de HC	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.91 0.05 2	18.62 1.21 2	8.74 2.19 2	0.44 0.11 2	1.00 0.00 2	0.15 0.00 2	265.53 2.51 2
		3 % de HC Fertilizada	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.91 — 1	15.98 — 1	9.40 — 1	0.47 — 1	1.00 — 1	0.25 — 1	141.91 — 1
		6 % de HC Fertilizada	\bar{x} D.E <i>n</i>	5.79 — 1	19.79 — 1	10.93 — 1	0.55 — 1	1.00 — 1	0.0 — 1	264.31 — 1