

Especies forestales aptas como alternativa para la restauración en suelos afectados por derrame
de hidrocarburos

Julieth Katherine Castañeda Orduz, Jhorman Esneyder Hernández Avella

Trabajo de Grado para Optar al título de

Ingeniero Forestal

Director

Diego Suescún Carvajal

MSc. Bosques y Conservación Ambiental

Codirector

Julián Mauricio Botero Londoño

PhD. Ciencias Agrarias

Universidad Industrial de Santander

Instituto de proyección Regional de Educación a Distancia IPRED

Programa de Ingeniería Forestal

Bucaramanga

2020

Dedicatoria

Dedicamos este trabajo de investigación en primera medida a Dios, por ser fuente de sabiduría y discernimiento en los momentos difíciles durante el proceso de formación académica y lograr nuestro título de ingenieros forestales la cual era la meta planteada. A nuestros padres y familiares que nos han apoyado en nuestro arduo camino, llenos de gratitud por que nos han regalado la oportunidad de formarnos profesionalmente, y siendo ellos nuestros pilares de vida Beatriz Orduz Galeano, Víctor Emilio Castañeda Palacios, Martha Inelda Avella Pérez, Héctor Gregorio Hernández León, muchas gracias por creer en nuestros sueños, confiar en nuestras capacidades, por sus amables consejos llenando nuestras vidas de enseñanzas, valores y principios. Porque gracias a ello somos personas correctas, educando siempre desde el amor, siendo ejemplo de dedicación, trabajo duro y sacrificio durante toda nuestra vida, ser sus hijos es un orgullo y privilegio. Queremos hacer un agradecimiento especial a nuestro director Msc Diego Suescun Carvajal por ser un excelente tutor y a nuestro codirector Ph. Julián Mauricio Botero Londoño a los dos por sus sabios consejos y correcciones porque gracias a sus conocimientos y experiencias, nos enseñaron y guiaron todos los días de nuestra formación académica profesional y así poder culminar nuestro proyecto de grado. A todos los profesores que nos guiaron es este proceso, quienes, con su paciencia, dedicación, apoyo incondicional y amistad, nos brindaron los saberes de la mejor manera y disposición. A todos nuestros compañeros y futuros colegas Ing. Forestal.

Tabla de contenido

Introducción.....	9
1. Objetivos.....	11
1.1. Objetivo General.....	11
2. Antecedentes.....	12
2.1. Antecedentes de la investigación	12
3. Marco referencial.....	14
3. 1. Marco teórico.....	15
3. 1. 1. El petróleo: fases en las que se puede hallar y categorización.	15
3. 1. 2. Contaminación ambiental por hidrocarburos.	15
3. 1. 3. El suelo y su relación con el ecosistema.	15
3. 1. 6. Plantas hiperacumuladoras de metales pesados.....	17
4. Metodología.....	18
4.1. Área de estudio	18
4.3. Muestra	19
4.5. Procesos metodológicos.....	20
4.6. Procesamiento de datos.....	21
5. Resultados.....	22
5. 1. Resultados de las mediciones del DAC la plántula.	22
5. 1. 1. Gráficas comparativas desarrollo promedio en DAC.	24
5. 2. Altura de la plántula.....	24
5. 2. 1. Gráficas comparativas desarrollo promedio de altura.	26
5. 3. Número de hojas por especie en cada tratamiento.....	27
5. 4. Resultados del pH tomado de cada tratamiento y por especie.	30
5. 5. Tasa de mortalidad.....	31
7. Conclusiones.....	38
8. Recomendaciones	39
Bibliografía.....	41
Apéndices	47

Lista de figuras

Figura 1. Mapa de ubicación Universidad Industrial de Santander sede Málaga.	18
Figura 2. Disposición de las especies en las bandejas por tratamientos.	19
Figura 3. Graficas de los resultados de TUKEY en DAC.	23
Figura 4. Comparación de DAC entre tratamiento.	24
Figura 5. Boxplot Alturas para las especies en los diferentes tratamientos.....	26
Figura 6. Comparación de alturas entre tratamientos.	27
Figura 7. Boxplot número de hojas para las especies en los diferentes tratamientos.	29
Figura 8. Resultados de la ganancia o pérdida de número de hojas que tubo cada especie, en cada tratamiento, en la última medición, en comparación con la primera medición.	30
Figura 9. Comparación comportamiento pH del suelo entre tratamientos.	31
Figura 10. Evaluación inicial de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento testigo.	32
Figura 11. Evaluación inicial de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento 1.	33
Figura 12. Evaluación inicial de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento 2.	33
Figura 13. Evaluación final de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento testigo.	34
Figura 14. Evaluación final de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento 1.....	35
Figura 15. Evaluación final de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento 2.....	36

Lista de apéndices

Apéndice A. Trasplante de las plantas utilizadas.	47
Apéndice B. Toma de datos iniciales.	47
Apéndice C. Plantas antes de la intoxicación con hidrocarburos.	48
Apéndice D. Intoxicación de las plantas.	48
Apéndice E. Muestra de hidrocarburo 47,3 API tratamiento 1.	49
Apéndice F. Muestra de hidrocarburo 56,60 API tratamiento 2.	50
Apéndice G. Plantas con hidrocarburo.	51
Apéndice H. Evaluación estado Fito sanitario, observación de hojas.	51
Apéndice I. hojas con inicios de marchitamiento.	52
Apéndice J. Evaluación fitosanitaria en las plantas.	52
Apéndice K. necrosis en hojas.	53
Apéndice L. Suspensión de agua por efecto del hidrocarburo.	53
Apéndice M. Estado final de las plantas.	54
Apéndice N. Estado final del suelo concentración 2.	54
Apéndice O. Estado final del suelo concentración 1.	55
Apéndice P. Muestras de suelo.	55
Apéndice Q. Toma de pH en el suelo.	56
Apéndice R. pH-metro de Bolsillo Hanna Hi 98127.	56

Lista de tablas

Tabla 1. Resultados de ANOVA y TUKEY en DAC.	22
Tabla 2. Resultados de ANOVA y TUKEY en altura.	25
Tabla 3. Resultados de ANOVA y TUKEY en número de hojas.	28

Resumen

Título: Especies forestales aptas como alternativa para la restauración en suelos afectados por derrame de hidrocarburos*

Autor: Julieth Katherine Castañeda Orduz & Jhorman Esneyder Hernández Avella**

Palabras claves: Fitorremediación, Usos del suelo, Petróleo.

Descripción:

La necesidad que se crea por el petróleo al ser el combustible de mayor uso a nivel mundial, hace que sea un tema al cual se le deba prestar importancia, el petróleo es un recurso de extracción constante, el cual trae consigo varios riesgos como lo son los derrames y contaminación en el medio ambiente, las cuáles causan un impacto muy negativo que necesita de diferentes métodos de ayuda para la restauración o corrección de este error y contratiempo. En el siguiente proyecto, se hizo el estudio de seis especies potenciales para su uso como medio de fitorremediación en suelos afectados por derrame de hidrocarburos. Se midieron variables como diámetro a la altura del cuello, altura, pH, mortalidad, con fin de determinar las diferencias más significativas en comparación con un suelo sin ninguna afectación. Los resultados revelaron de que cinco de las especies evaluadas, presentaron tolerancia a contaminaciones bajas de petróleo y en muchas de las variables no mostraron cambios significativos en los diferentes tratamientos, llevándolas a ser óptimas para una fitorremediación de suelos afectados por derrame de hidrocarburos. También se pudo determinar que el mejor comportamiento en el estudio fue para las especies *Plukenetia volubilis* y *Lafoensia acuminata*. Para estudios de este tipo se debe tener en cuenta la mayor cantidad de variables posibles, ya que al modificar alguna como o puede ser, la cantidad de crudo, el tipo de suelo o una diferente especie, con esto los resultados nos pueden cambiar totalmente.

*Trabajo de grado

**Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia IPRED. Programa de ingeniería forestal. Director: Diego Suescún Carvajal, MSc. en Bosques y Conservación Ambiental. Codirector: Julián Mauricio Botero Londoño PhD. Ciencias Agrarias.

Abstract

Title: Forest species suitable as an alternative for restoration in soils affected by oil spills*

Author: Julieth Katerine Castañeda Orduz & Jhorman Esneyder Hernández Avella**

Keywords: Phytoremediation, Land use, Oil.

Description:

The need created by oil as it is the most widely used fuel in the world, makes it an issue that should be given importance, oil is a constant extraction resource, which brings with it several risks such as the spills and contamination in the environment, which cause a very negative impact that needs different methods of help for the restoration or correction of this error and setback. In the next project, a study was made of six potential species for use as a means of phytoremediation in soils affected by hydrocarbon spills. Variables such as diameter at neck height, height, pH, mortality were measured in order to determine the most significant differences compared to a soil without any affectation. The results revealed that five of the evaluated species presented tolerance to low oil contamination and in many of the variables they did not show significant changes in the different treatments, leading them to be optimal for a phytoremediation of soils affected by oil spills. It was also possible to determine that the best performance in the study was for the species *Plukenetia volubilis* and *Lafoensia acuminata*. For studies of this type, the largest number of possible variables must be taken into account, since when modifying any such as or may be, the amount of oil, the type of soil or a different species, with this the results can totally change us.

*Bachelor Thesis.

**Instituto de Proyección Regional y Educación a Distancia IPRED. Programa de ingeniería forestal. Director: Diego Suescún Carvajal, MSc. en Bosques y Conservación Ambiental. Codirector: Julián Mauricio Botero Londoño PhD. Ciencias Agrarias.

Introducción

El incremento en la extracción de los recursos naturales en el mundo, han traído como consecuencia gran cantidad de efectos adversos al medio ambiente lo cual evidencia la pérdida y degradación de los ecosistemas intervenidos por causa del deterioro. Los hidrocarburos son la principal fuente de energía del mundo actual, y la extracción de petróleo se convierte en una de las principales prácticas generadoras de pérdida de biodiversidad (Olguín et al., 2007). El impacto ambiental de los derrames de crudo ha dejado miles de kilómetros de ríos y quebradas afectadas, a causa de efectos antrópicos o naturales. Tales efectos son prácticamente irremediables, ya que los procesos de descontaminación no alcanzan a cubrir todas las áreas afectadas y se realizan mucho tiempo después de que el crudo ha penetrado al ecosistema (Delgado Montoya, 2009).

Los procesos de descontaminación no tienen cubrimiento sobre toda la afectación y se realizan mucho tiempo después de que el crudo ha penetrado al ecosistema (Delgado y Montoya, 2009). Hay distintos procesos relacionados con el clima que ayudan a la restauración natural en zonas de descargas de petróleo (Brakstad y Bonaunet, 2006). No obstante, en la mayoría de los derrames de petróleo, dicha capacidad de autodepuración no es suficiente para remediar los sitios contaminados e incluso los productos en alguno de los casos, son más tóxicos que los hidrocarburos originales (Kingston, 2002). Adicionalmente, a medida que transcurre el tiempo los hidrocarburos derramados en ambientes se adhieren fuertemente a los sedimentos debido a su baja solubilidad en agua y a su carácter hidrofóbico (Ke et al., 2002, García-López et al., 2006). Por otro lado, Colombia por su ubicación geográfica, es potencialmente vulnerable a eventos de

origen natural y antrópico de ser afectada por contaminación proveniente de derrames (Moreno, 2006; Arias, 2017)

La importancia del suelo reside en los servicios ambientales de soporte, regulación, provisión y culturales que proporciona al ser humano (SEMARNAT, 2009). Este recurso natural es el soporte de los organismos, actúa como reserva de sustancias orgánicas y minerales, regula los intercambios y flujos en el ecosistema, es el sitio de la transformación de la materia orgánica, además, es un sistema de purificación y amortiguamiento de las sustancias tóxicas (Trujillo et al., 2012).

Actualmente, existe una necesidad de realizar estudios integrales de biorremediación, fitorremediación y restauración frente a que son pocas las estrategias que permiten dar una respuesta a corto y mediano plazo a la contaminación de suelos por derrames a nivel mundial y los métodos utilizados no garantizan la recuperación de las condiciones originales del suelo. El funcionamiento y la resiliencia de las propiedades alteradas del suelo contaminado con petróleo y restaurado, requieren la medición de la eficiencia de la restauración debido a esto se crea el estudio. Con el objeto de restaurar las zonas afectadas, se necesita conocer las especies forestales de mayor eficiencia para poder proponer medidas efectivas y de confianza.

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Evaluar la potencialidad de seis especies forestales al ser expuestas en una contaminación de un suelo afectado por derrame de hidrocarburos.

1.2. Objetivos Específicos

Identificar la especie con mayor crecimiento en diámetro a la altura del cuello (DAC) y altura de las diferentes especies en las diferentes concentraciones.

Evaluar el desarrollo fisiológico definiendo las variables como pH del suelo y estado fitosanitario.

Comprobar el comportamiento de los niveles de pH en los diferentes tratamientos utilizando el método de pH-metro y con una relación de suelo-agua, 1:2,5.

Determinar la tasa de mortalidad o supervivencia en el suelo afectado con la concentración de petróleo pesado (47,3 API), liviano (56,60 API), y sin ningún tipo de contaminante.

2. Antecedentes.

2.1. Antecedentes de la investigación

Arellano et al. (2017), evaluaron los efectos de la contaminación por petróleo en tres sitios en la Amazonía ecuatoriana, considerando zonas de estudio contaminadas y no contaminadas, apreciando el contenido de clorofila foliar. Obteniendo como resultado menores valores de clorofila foliar en el sitio contaminado, comparado con los sitios no contaminados. En el área contaminada sobresale la familia Melastomataceae y Rubiaceae, aconsejando que especies que pertenecen a estas familias son competidores superiores en presencia de contaminación.

Panchenko et al. (2017), reportaron que las familias Asteraceae, Fabaceae, Poaceae, y Brassicaceae primaron por un periodo de 13 años en suelos contaminados y no contaminados de una refinería de petróleo, usaron 62 especies de plantas, realizaron un estudio de campo de las características que hacen más fácil la remediación natural del suelo por las plantas, evaluaron resistencia a la contaminación, reducción de la concentración de hidrocarburos, capacidad de enriquecimiento del suelo en la rizósferaon microorganismos y nitrógeno mineral biodisponible. Ochoa et al. (2011), Reportaron 25 especies que resistieron a la contaminación de suelos (de 45 especies registradas), la mayoría de las plantas se encontraron en sitios con menor nivel concentración del contaminante y en la etapa de plántula, indicando un buen desarrollo al inicio pero que no llegan a la etapa adulta, a causa de ser consumidas por el ganado o eliminadas en la limpieza de potreros. Asimismo, sugieren que *Myrica cerifera* y *Acoelorrhaphe wrightii*, y pueden ser útiles para la restauración de sitios con alto contenidos de hidrocarburos, por su capacidad de crecer en estos ambientes (Vigo et al., 2018).

Las leguminosas, son consideradas para la fitorremediación debido a su capacidad fijadora de nitrógeno, por lo que no son competencia para otros microorganismos y plantas por el suministro de nitrógeno disponible en sitios afectados por derrames de petróleo (Gudin & Syrratt, 1975; Sangabriel, 2006). Dentro de las técnicas de restauración de suelos afectados por la contaminación, se han utilizado plantas herbáceas, mayormente gramíneas, buscando tratar de incidir en el funcionamiento de los ecosistemas. La investigación con especies vegetales leñosas nativas ha sido muy reducida, por ello es necesaria la búsqueda de aquellas con capacidad para crecer en zonas profundamente alteradas con hidrocarburos y que, con el tiempo, permitan la recuperación de la fertilidad del suelo, que favorezcan un microclima y un ciclo hidrológico similares a los originales, el restablecimiento de al menos parte de la flora y fauna nativa que aún sobrevive en algunos sitios (Vázquez-Yanes et al., 1999), la generación de productos con valor económico que mejore la calidad de vida de los productores. Ederra (1997) y Manios et al. (2003) han considerado que el escobillo (*Eugenia capuli*) es una planta que forma comunidades casi puras en suelos con derrames de petróleo viejos de hasta 10 años. Específicamente, varias especies de plantas que poseen un sistema de raíces fibrosas que provee una gran superficie para los microorganismos de la rizósfera, se han probado para fitorremediar y biorremediar agua y suelos contaminados de los cuales destacan *Sorghum vulgare*, *Andropogon gerandi*, *Panicum virgatum*, *Lolium perenne*, *Echinochloa polystachya*, *Paspalum fasciculatum*, *Eichhornia crassipes*, etc. En este sentido, García-López et al. (2006) realizaron un estudio en una zona contaminada con derrames de petróleo en Cinco Presidentes, Rodador y La Venta, Tabasco (México) se identificaron 87 especies vegetales, 33 de las cuales se encontraron sobre sitios contaminados, el resto en áreas aledañas; algunas, en su mayoría arbustos y árboles, presentaron daños visibles, como clorosis y necrosis, en zonas de afectación reciente. Las plantas que

reportan son pioneras en suelos contaminados con hidrocarburos y pudieran ayudar en la fitorremediación de estos. Por otra parte, en una investigación realizada por Ochoa-Gaona et al. (2011), se realizó un inventario florístico en zonas contaminadas por hidrocarburos que habían sido impactadas por derrames de petróleo entre los años 1960 y 2005 en Cárdenas y Huimanguillo (Tabasco). En estas áreas se identificaron 646 individuos pertenecientes a 23 familias botánicas y 45 especies, la mayor parte de ellas árboles, arbustos y algunas especies de palmas. Dado que estas especies se encuentran establecidas en estos sitios, se considera que tienen tolerancia a los hidrocarburos. Es así como Pérez-Hernández et al. (2013) mencionan que las especies arbóreas van a tener una respuesta diferente a los suelos contaminados con hidrocarburos, ya que realizaron estudios con *Swietenia macrophylla*, *Cedrela odorata*, *Haematoxylum campechianum* y *Tabebuia rosea*. Notaron que la germinación de las semillas de estas especies no se ve afectada. Pero la altura y la biomasa de las cuatro especies evaluadas se redujeron en el suelo contaminado con el petróleo crudo (pesado). Por otro lado, *S. macrophylla* y *H. campechianum* tuvieron una tasa de supervivencia igual en el suelo con o sin petróleo, sin embargo, sufrieron efectos significativos en lo que respecta a la acumulación de biomasa y la altura de la planta. En el análisis de las plántulas de *C. odorata* y *T. rosea* se observó una tendencia a menor supervivencia en los suelos contaminados. Pérez-Hernández y colaboradores (2013) recomiendan a *S. macrophylla* para degradar hidrocarburos en suelos contaminados ya que resultó ser la especie más tolerante a las concentraciones y el tipo de petróleo probado

3. Marco referencial.

3. 1. Marco teórico

3. 1. 1. El petróleo: fases en las que se puede hallar y categorización.

El petróleo es una mezcla compleja de hidrocarburos que se conforma principalmente carbono e hidrogeno en cantidades que oscilan entre 86 % y 14 %, a proporción, en la combinación que lo integran, los hidrocarburos cohabitan en fase sólida, líquida y gaseosa y suelen mostrar además en su composición, pequeñas proporciones de heterocompuestos con presencia de nitrógeno, azufre, oxígeno y algunos metales. El petróleo cambia mucho en su composición, la cual cae en manos del tipo de yacimiento de donde provenga. Los hidrocarburos que componen al petróleo consiguen agruparse en cuatro categorías: alifáticos, aromáticos, polares o resinas y asfáltenos. La proporción de cada una de estas partes se debe a muchos factores como la zona geográfica, historia geológica, edad, migración y alteración del petróleo crudo (Chow, 1987).

3. 1. 2. Contaminación ambiental por hidrocarburos.

El incremento de utilidad del petróleo en el mundo ha conllevado a que la industria del petróleo ocasione serios problemas ambientales, uno de los más serios en materia de contaminación de suelos es el derrame de los hidrocarburos derivados del petróleo, esto se puede probar cuando tanques u oleoductos sufren daños, ya sea por el mal manejo u otras causas, estos se deterioran y sufren rupturas, causando daños al área (Martínez et al; 2011; Baoune et al., 2018). Los hidrocarburos del petróleo resaltan por su toxicidad y propiedades recalcitrantes. Estos contaminantes al ser vertidos se dispersan en el ecosistema, y sus componentes volátiles a la atmósfera (Vasallo & Herrera, 2002; Nustez, 2012; Baoune et al., 2018). El petróleo en el suelo produce un riesgo para la salud humana, debido a los problemas de toxicidad y propiedades destructivas (Vigo et al., 2018).

3. 1. 3. El suelo y su relación con el ecosistema.

Colombia posee gran diversidad de unidades de suelo formándose al pasar del tiempo como resultado de diferentes factores como: el relieve, el clima, el material parental, la vegetación, los microorganismos y el hombre. La obtención de dichas unidades resulta muy compleja y el criterio de agrupación lo forma el paisaje geomorfológico y el clima (Jiménez, 2006), cada caso de derrame es único Cada alteración tiene su particularidad, temperatura, pH, humedad, tipo de suelo; y por ende no hay un método universal que nos permita llevar a cabo las mismas acciones para todos los casos de derrames que se lleguen a presentar. Por ejemplo, la presencia de aceite en un suelo arenoso este tipo de derrame tiende a perder indicadores como la permeabilidad o la compactación, en ocasiones sufre variaciones cuyos comportamientos están asociados a la saturación del aceite en el medio (Serrano et al., 2013). Además, Shin & Das, (2001) encontraron que suelos arenosos en porcentajes de aceites superiores hasta del 6% pueden ocasionaron reducción de la capacidad de carga de los suelos.

3. 1. 4. Evaluación de la calidad del suelo.

Se interpreta como la utilidad del suelo para un propósito específico en una escala amplia de tiempo. El estado de las propiedades del suelo, como contenido de materia orgánica, diversidad de organismos o productos microbianos, en un tiempo particular, constituyen la salud del suelo (Lasat, 2002; Rodríguez, 2014).

3. 1. 5. Fitorremediación.

Se basa en el uso conjunto de plantas, enmiendas del suelo y técnicas para eliminar, retener, o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo (Chaney et al., 1997). Este grupo de fitotecnologías agrupa gran número de ventajas, especialmente la limpieza y la economía; no utilizan reactivos químicos que puedan causar algún peligro, ni afecten negativamente a la

estructura del suelo, sólo aplican métodos agrícolas comunes; sumado a esto, el proceso se realiza in situ evitando costos y transportes (Cunningham et al., 1995)

Las sustancias o elementos tóxicos, primordialmente los metales pesados, se hallan generalmente en bajas concentraciones en el medio ambiente, aunque, como consecuencia antropogénica, sus niveles se han incrementado. Así, se considera que existe contaminación del suelo cuando la composición de este se ve afectada de su composición “normal”, denominado nivel o fondo biogeoquímico (Carpena & Bernal, 2007).

La fitorremediación constituye una estrategia de las menos costosas y ambientalmente amigable que ayuda a la restauración suelos contaminados con hidrocarburos (Cunningham et al., 1996). Los diferentes mecanismos y la eficiencia de la fitorremediación son sometida por el tipo de contaminante.

La fitorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo es llevada a cabo principalmente en la biodegradación en la rizósfera (Frick et al., 1999), por lo que el sistema radical de la planta es un parte importante en la limpieza de suelos. Las plantas y sus raíces pueden influir indirectamente en la degradación por medio de la alteración de las condiciones físicas y químicas del suelo (Cunningham et al., 1996).

3. 1. 6. Plantas hiperacumuladoras de metales pesados.

Todas las plantas poseen una capacidad de absorción de metales del suelo, pero la mayoría de las plantas solamente absorben los que son esenciales para su supervivencia y desarrollo. Existe una excepción de esta regla, de un pequeño grupo de plantas que pueden tolerar, absorber y trasladar altos niveles de ciertos metales (Chen et al., 2001; Viñas, 2005). Si una planta contiene más de 0,1% de Ni, Co, Cu, Cr y Pb o 1% del Zn, en sus hojas sobre una base del peso seco, ésta se

puede nombrar como una “hiperacumuladora”, sin tomar en cuenta de la concentración del metal en el suelo (Robinson et al., 2003; Viñas, 2005).

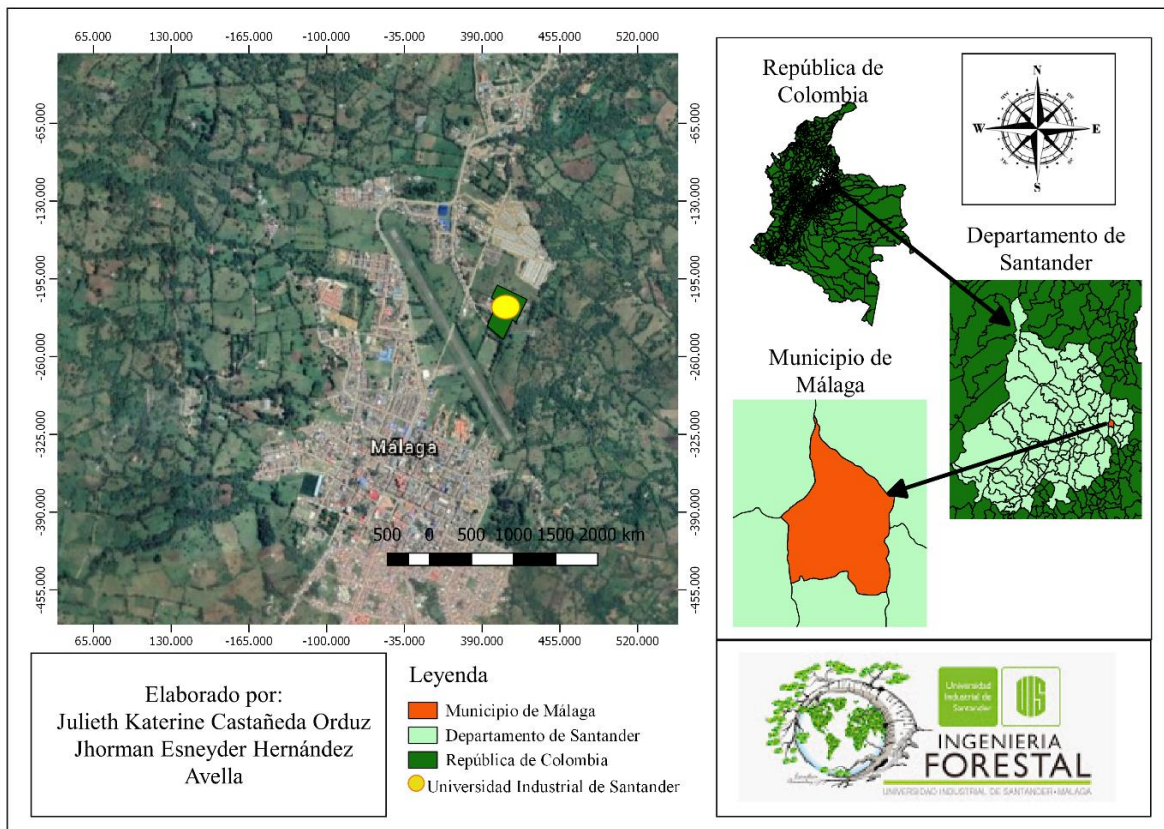
4. Metodología.

4. 1. Área de estudio.

Se realizó el proyecto en el vivero de las instalaciones de la Universidad Industrial de Santander sede Málaga (Figura 1). Con una altitud de 2202 m. s. n. m y una temperatura máxima promedio de 19 °C y mínima promedio de 12 °C.

Figura 1.

Mapa de ubicación Universidad Industrial de Santander sede Málaga.



4. 2. Población

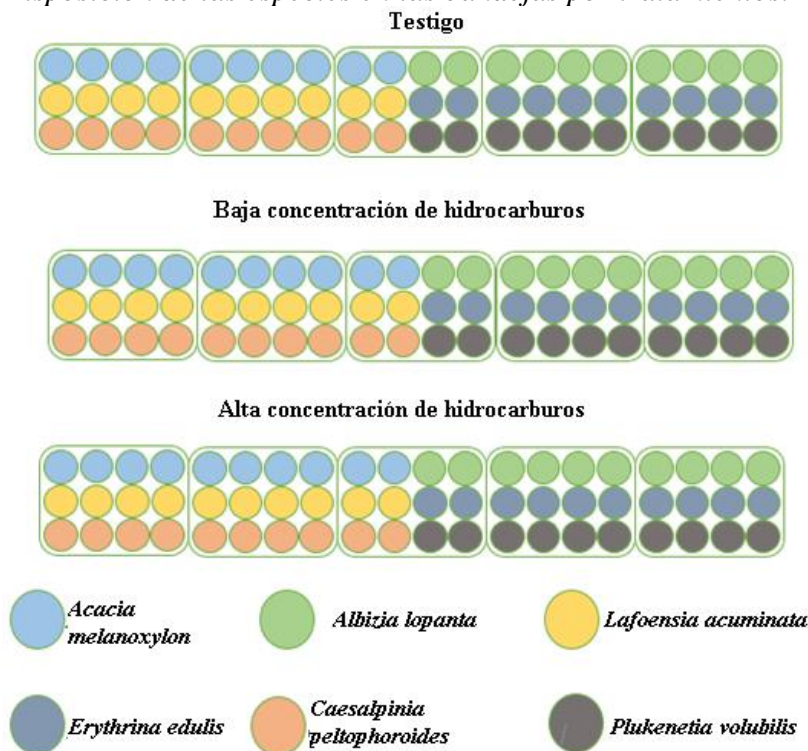
La población está conformada por 180 plantas de las siguientes especies *Acacia melanoxylon*, *Lafoensia acuminata*, *Albizia lopanta*, *Erythrina edulis*, *Caesalpinia peltophoroides*, *Plukenetia volubilis*; a las cuales se les realizaron pruebas con dos concentraciones, identificando su densidad respectivamente. La concentración 1 (47,3 API) como se muestra en el (Apéndice E) y la concentración 2 (56,60 API) mostrada en el (Apéndice F) y muestra de hidrocarburo un testigo.

4. 3. Muestra

Se realizó el estudio con un muestreo estratificado o en bloque, cada uno con 10 plantas de las seis especies con el fin de evaluar su comportamiento en cada uno de los diferentes sustratos (Figura 2).

Figura 2.

Disposición de las especies en las bandejas por tratamientos.



4. 4. Instrumentos de recolección de información, aplicación y tabulación de datos.

Para la recolección de la información se utilizaron los siguientes elementos, para la medición de: alturas (Cinta métrica), DAC (Pie de rey), peso verde y peso seco (Báscula), pH del suelo (pHmetro digita) y para la recolección de las muestras del suelo (Bolsas plásticas)

4. 5. Procesos metodológicos

En la adecuación del suelo para la determinación del desarrollo fisiológico de las plántulas en los diferentes tratamientos se eligió y colectó el suelo en ocho costales posteriormente utilizada en los recipientes dispuestos para la realización de los procesos, y se colectó la muestra del suelo inicial para la posterior identificación de su pH. Se realizó el trasplante de las plantas anteriormente seleccionadas por el método de observación, dejándolas mes y medio en el suelo adecuado para el estudio sin ningún tipo de intervención a excepción del riego diario, y de este modo tener una mejor adaptabilidad de las plantas en el suelo, para su posterior intoxicación, aplicando 2 l de hidrocarburo, distribuido de manera homogénea de a 5 cm de las dos concentraciones diferentes de hidrocarburo, quedando así tres tratamientos que constan de un testigo, una contaminación con una alta concentración, y la otra contaminación con una baja concentración.

Para la evaluación del desarrollo fisiológico se definieron las variables a tener en cuenta como (los niveles de pH presentes en el suelo y estado fitosanitario). Los monitoreos periódicos miden el progreso de la remediación (US EPA, 2000; ITRC, 2001; Maqueda, 2003), por consiguiente, en esta fase se realizó la medición inicial de las plantas y de manera periódica durante cuatro meses, realizando una medición cada mes en (DAC, Altura y número de hojas).

Se determinó el comportamiento de los niveles de pH en los diferentes tratamientos bajo el método (Kloster, 2008) que consiste en una relación suelo: solución extractora 1:2,5 y se propone un agitado de 5 minutos y reposo de 2 a 24 horas. De modo similar se tomó la muestra de suelo, se preparó la disolución agitándola por 5 minutos y dejando decantar durante 2 horas; y así este procedimiento con cada uno de los suelos de los diferentes tratamientos y especies, para así ser tomado el nivel de pH con un pH-metro digital.

Se evaluó la tasa de mortalidad en los diferentes tratamientos realizando un control fitosanitario en cada una de las mediciones y determinando como bueno (B) con 70% a 100% de la planta en buen estado, regular (R) con 30% a 70%, y muerto (M) inferior al 30%, dándoles a cada uno de ellos un puntaje de 2, 1 y 0, respectivamente, para realizar los análisis de manera cuantitativa y su mejor ajuste a modelos estadísticos.

4. 6. Procesamiento de datos

A las mediciones realizadas durante cada mes, se le hizo una depuración corroborando si habían datos por fuera de lo común, los datos obtenidos se promediaron luego se les realizó un modelo estadístico ANOVA, el cual fue de ayuda para la determinación de las diferencias significativas entre tratamientos para cada especie, una vez se realizó este, se prosiguió a realizar el modelo de Tukey el cual fue de ayuda para determinar con respecto a que tratamiento específico se encontraban estos cambios distintivos (Infostat, 2003).

Al realizar el análisis de (ANOVA) contrastan dos hipótesis, hipótesis nula (H_0), e hipótesis alternativa (H_1).

Hipótesis nula (H_0) = NO existen diferencias significativas

Hipótesis alternativa (H1) = SI existen diferencias significativas

5. Resultados

5. 1. Resultados de las mediciones del DAC la plántula.

No existen diferencias significativas entre los tres tratamientos en cuanto al crecimiento de DAC para las especies *Acacia melanoxylon*, *Albizia lopanta*, *Plukenetia volubilis*, *Caesalpinia peltophoroides*, dando como resultado en el ANOVA ($p > 0.05$) sin embargo, hubo dos especies que tuvieron diferencias significativas con ($p < 0.05$) en el comportamiento de crecimiento en DAC, la especie *Lafoensia acuminata* presentó un aumento en el tratamiento 1 con respecto al testigo, y la especie *Erythrina edulis*, cuyo crecimiento disminuyó en el tratamiento 2 con respecto al testigo (Tabla 1).

Tabla 1.

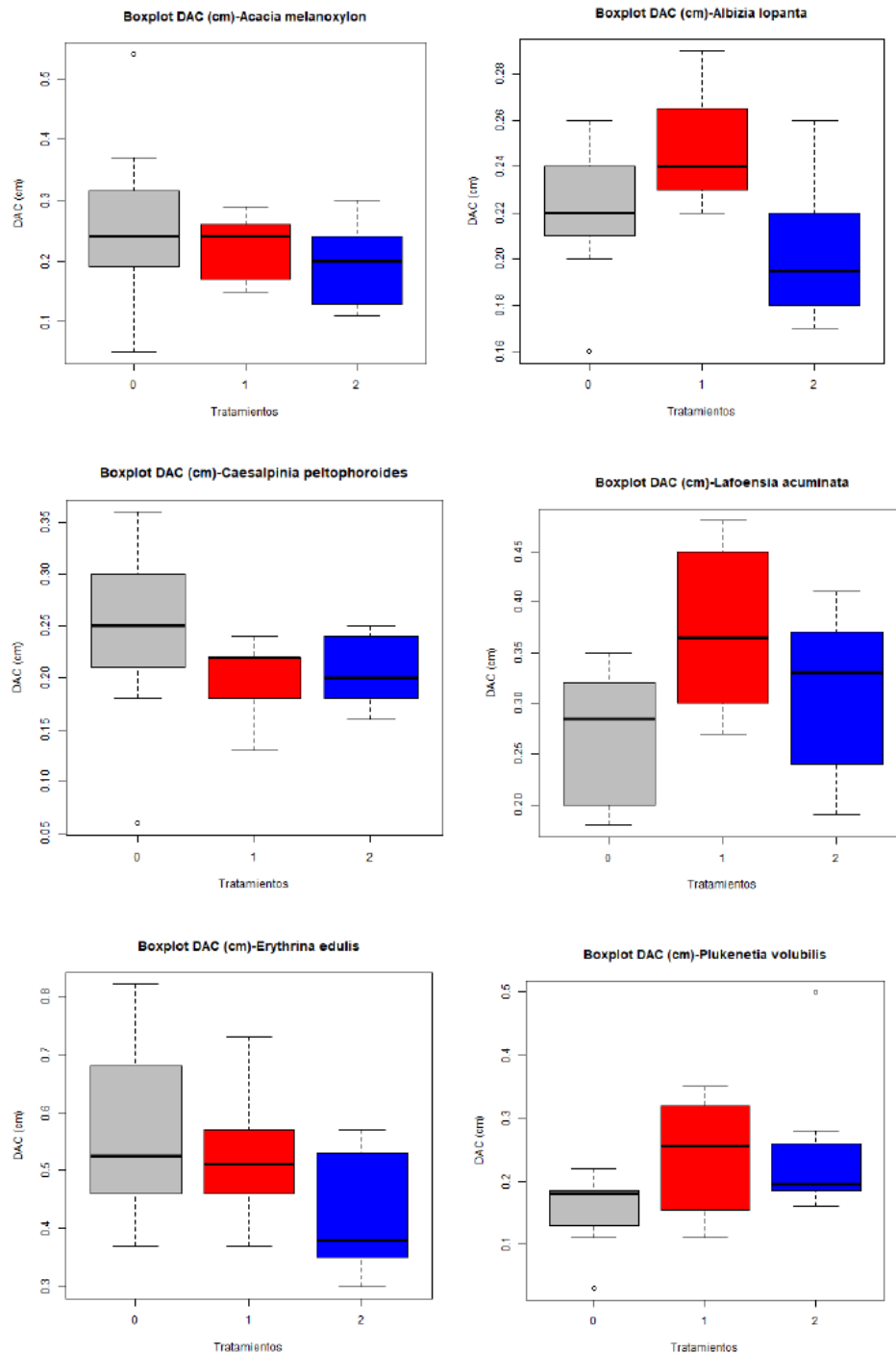
Resultados de ANOVA y TUKEY en DAC.

ESPECIE	P. Valor ANOVA	P. Valor TUKEY
<i>Acacia melanoxylon</i>	0,3687197	(1-0) 0,7319653 (2-0) 0,3359651 (2-1) 0,7729187
<i>Albizia lopanta</i>	0,09614808	(1-0) 0,3764387 (2-0) 0,4498917 (2-1) 0,0888919
<i>Plukenetia volubilis,</i>	0,1208076	(1-0) 0,1725714 (2-0) 0,1575110 (2-1) 0,9983512
<i>Caesalpinia peltophoroides</i>	0,249968	(1-0) 0,3058776 (2-0) 0,3335126 (2-1) 0,9948143
<i>Lafoensia acuminata</i>	0,02484895	(1-0) 0,0189270 (2-0) 0,4298910 (2-1) 0,2103583
<i>Erythrina edulis</i>	0,03713647	(1-0) 0,6411337 (2-0) 0,0313763 (2-1) 0,2170837

Observando los resultados de TUKEY en DAC gráficamente (Figura 3), para las especies en los diferentes tratamientos.

Figura 3.

Graficas de los resultados de TUKEY en DAC.

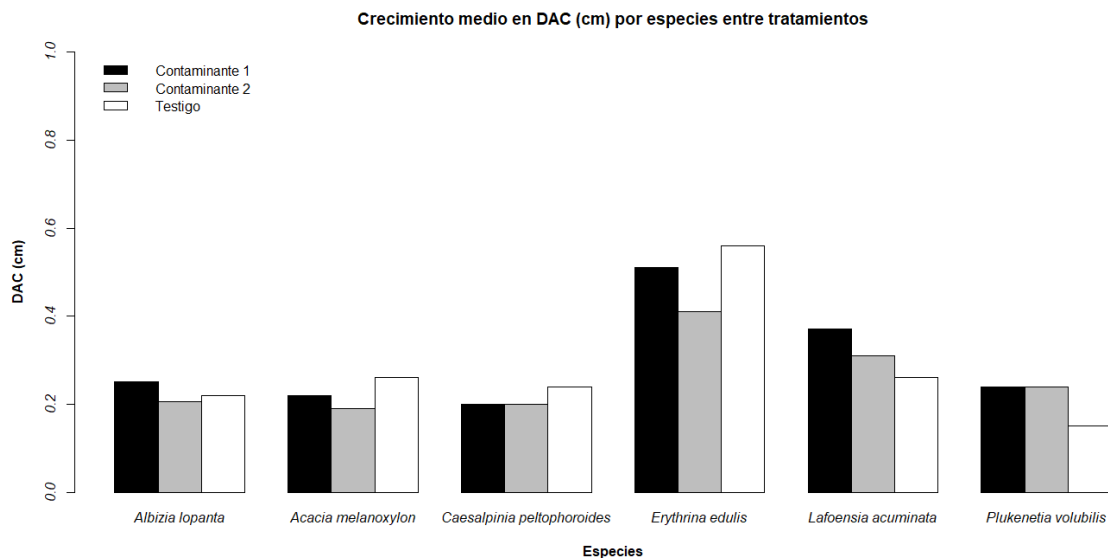


5. 1. 1. Gráficas comparativas desarrollo promedio en DAC.

Los resultados arrojaron que la especie *Plukenetia volubilis* presentó un mejor comportamiento en cuanto a crecimiento en el diámetro del cuello en el tratamiento 2 con respecto al testigo. Por otro lado, la especie con menor comportamiento en cuanto a crecimiento en el diámetro del cuello en el tratamiento 2 con respecto al testigo, fue *Erythrina edulis*. la especie con mejor comportamiento en cuanto a crecimiento en el diámetro del cuello en el tratamiento 1 con respecto al testigo, fue la especie *Lafoesia acuminata*, la especie con menor comportamiento en cuanto a crecimiento en el diámetro del cuello en el tratamiento 1 con respecto al testigo, fue la especie *Caesalpinia peltophoroides* (Figura 4).

Figura 4.

Comparación de DAC entre tratamiento.



5. 2. Altura de la plántula.

El resultado obtenido en el análisis de para las especies hubo cuatro las que no tuvieron una diferencia significativa entre tratamientos estas fueron la *Acacia melanoxylon*, *Lafoesia acuminata*, *Plukenetia volubilis*. *Erythrina edulis* siendo mayores al (0. 05) o 5% y presentando

un comportamiento en condiciones normales respecto al testigo como se muestra en la (Figura 5) (Tabla 2). Las especies que existe un comportamiento son la *Albizia lopanta* 0,023 para el tratamiento 1 con un menor desarrollo en alturas a diferencia del tratamiento 2 que tuvo un comportamiento similar al testigo. Para la especie *Caesalpinia peltophoroides* 0,004 entre los tratamientos respecto al testigo.

Tabla 2.

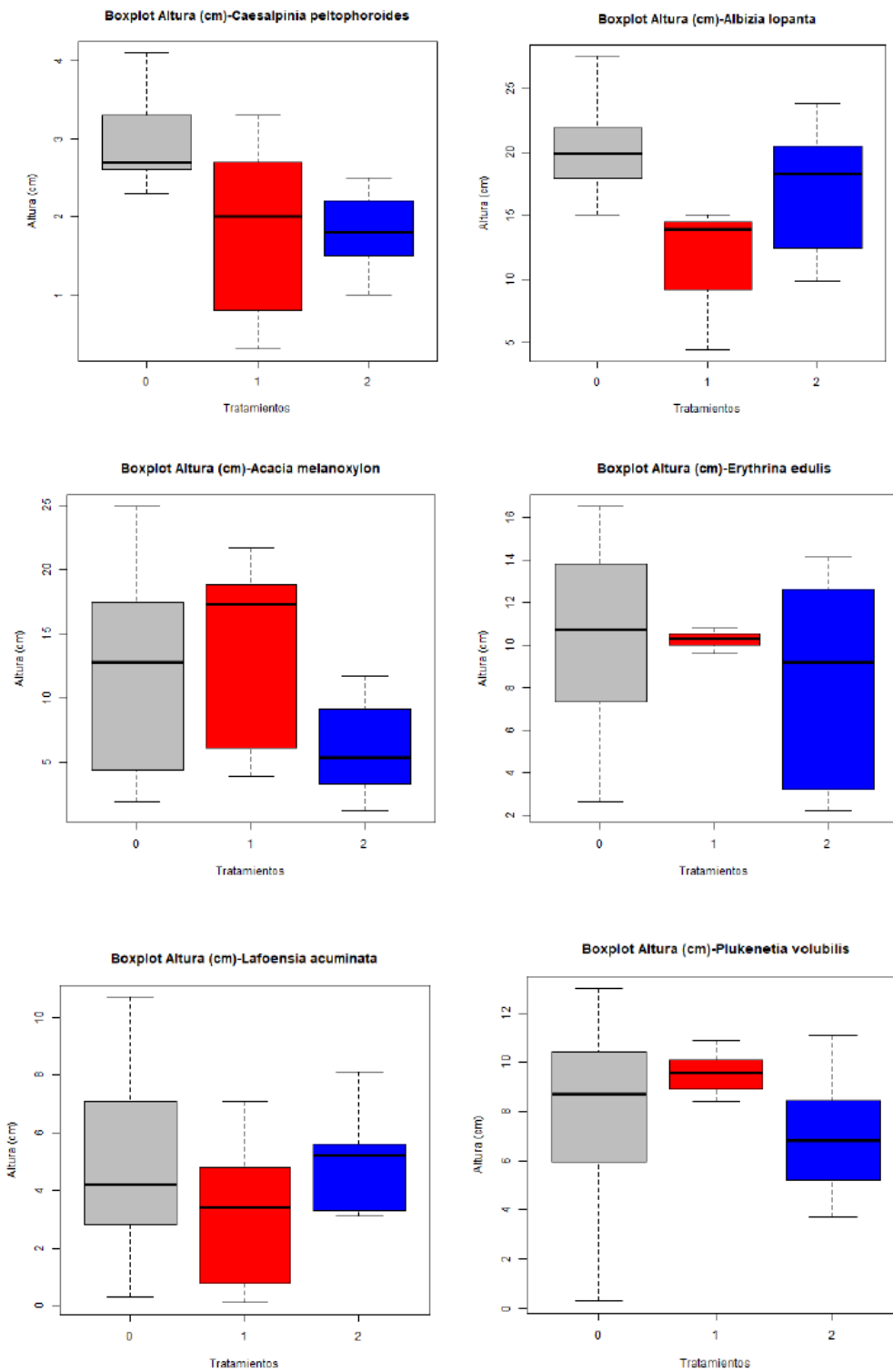
Resultados de ANOVA y TUKEY en altura.

ESPECIE	P. Valor ANOVA	P. Valor TUKEY
<i>Acacia melanoxylon</i>	0,05611706	(1-0) 0,9608053 (2-0) 0,1374647 (2-1) 0,0699563
<i>Albizia lopanta</i>	0,02348724	(1-0) 0,0202961 (2-0) 0,2576455 (2-1) 0,1732301
<i>Plukenetia volubilis,</i>	0,2381815	(1-0) 0,5074443 (2-0) 0,8370785 (2-1) 0,2170556
<i>Caesalpinia peltophoroides</i>	0,004069702	(1-0) 0,0091453 (2-0) 0,0098401 (2-1) 0,9994713
<i>Lafoensia acuminata</i>	0,2500014	(1-0) 0,3641907 (2-0) 0,9696222 (2-1) 0,2612674
<i>Erythrina edulis</i>	0,5117307	(1-0) 0,9998996 (2-0) 0,5521488 (2-1) 0,6200659

Observando los resultados de TUKEY en Altura gráficamente (Figura 5), para las especies en los diferentes tratamientos.

Figura 5.

Boxplot Alturas para las especies en los diferentes tratamientos.

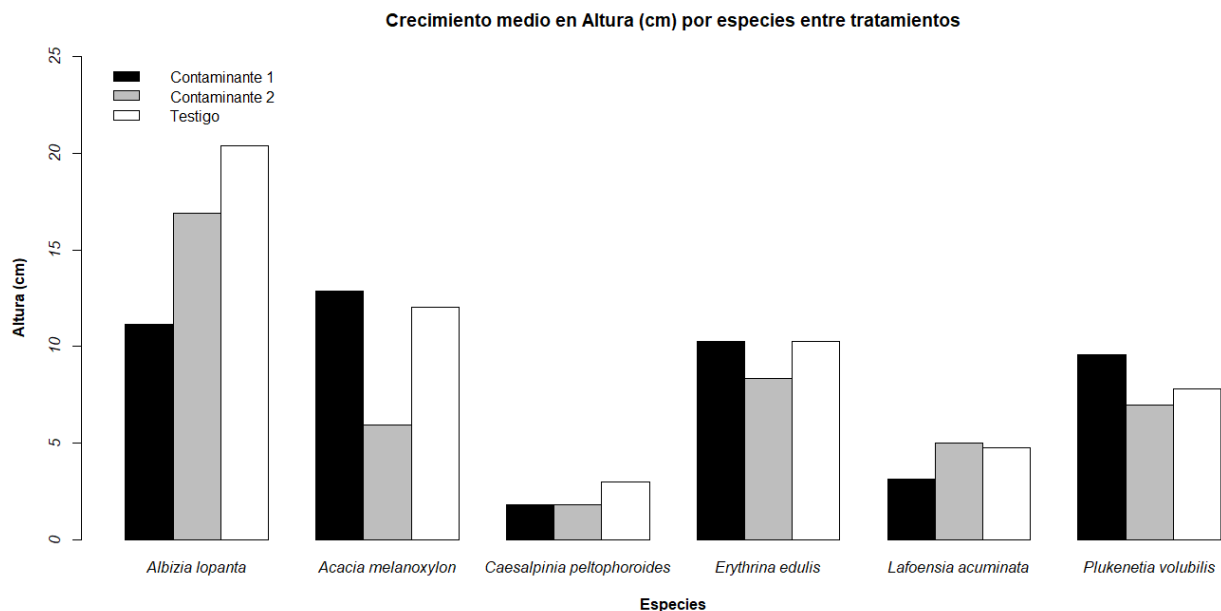


5. 2. 1. Gráficas comparativas desarrollo promedio de altura.

Los resultados nos evidencian que para las especie *Albizia lopanta* y *Caesalpinia peltophoroides* hay un desarrollo en alturas menor en comparación al testigo, y existe una diferencia en las dos concentraciones para la especie *Albizia lopanta*, mientras que para la especie *Caesalpinia peltophoroides* presentó un comportamiento similar entre los tratamientos 1 y 2. Para las especies con otro comportamiento similar fueron *Acacia melanoxylon*, *Plukenetia volubilis*, las cuales su desarrollo fue un poco superior comparado con el tratamiento testigo mientras que en la concentración 2 se evidencia una reducción en el crecimiento con respecto a los otros dos tratamientos y la especie *Erythrina edulis* un comportamiento igual entre la concentración 2 y el testigo, siendo la especie *Lafoesia acuminata* la única que presentó un mayor desarrollo en la concentración 2. Las especies que mejor desarrollo en alturas presentaron en el tratamiento 1 con respecto al testigo fueron *Acacia melanoxylon*, *Plukenetia volubilis* como se muestra en la (Figura 6).

Figura 6.

Comparación de alturas entre tratamientos.



5. 3. Número de hojas por especie en cada tratamiento

Existen diferencias significativas en los tratamientos en cuanto al número de hojas (Figura 7), para la mayoría de las especies se presentaron reducciones, *Albizia lopanta*, *Acacia melanoxylon*,

Caesalpinia peltophoroides, *Erythrina edulis*, *Plukenetia voubilis*, dando resultados en el análisis ($p > 0.05$) sin embargo, hubo una especie cuyas diferencias no son consideradas significativas con respecto a los demás tratamientos, la especie *Lafoensia acuminata* ($p > 0.05$) (Tabla 3).

Tabla 3.

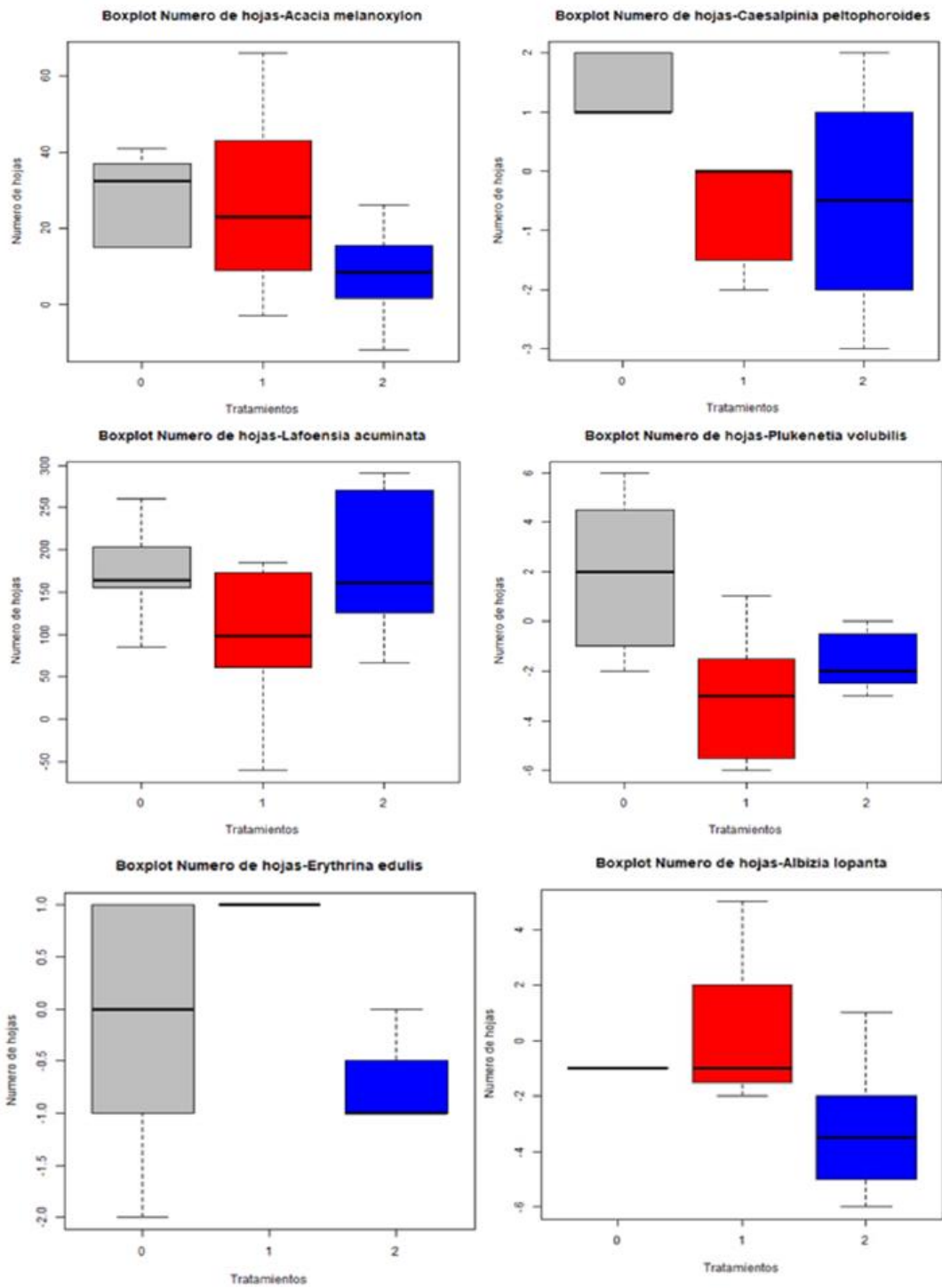
Resultados de ANOVA y TUKEY en número de hojas.

ESPECIE	P. Valor ANOVA	P. Valor TUKEY
<i>Acacia melanoxylon</i>	0,04203853	(1-0) 0,9983950 (2-0) 0,0989466 (2-1) 0,0549391
<i>Albizia lopanta</i>	0,0322008	(1-0) 0,5173290 (2-0) 0,1501682 (2-1) 0,0427611
<i>Plukenetia volubilis,</i>	0,003505521	(1-0) 0,0028141 (2-0) 0,0461776 (2-1) 0,4633791
<i>Caesalpinia peltophoroides</i>	0,02129912	(1-0) 0,0352108 (2-0) 0,0319354 (2-1) 0,9841823
<i>Lafoensia acuminata</i>	0,06658841	(1-0) 0,1254934 (2-0) 0,9929869 (2-1) 0,0818335
<i>Erythrina edulis</i>	0,01259176	(1-0) 0,0583049 (2-0) 0,4827521 (2-1) 0,0102195

Observando los resultados de TUKEY en número de hojas gráficamente (Figura 7), para las especies en los diferentes tratamientos.

Figura 7.

Boxplot número de hojas para las especies en los diferentes tratamientos.

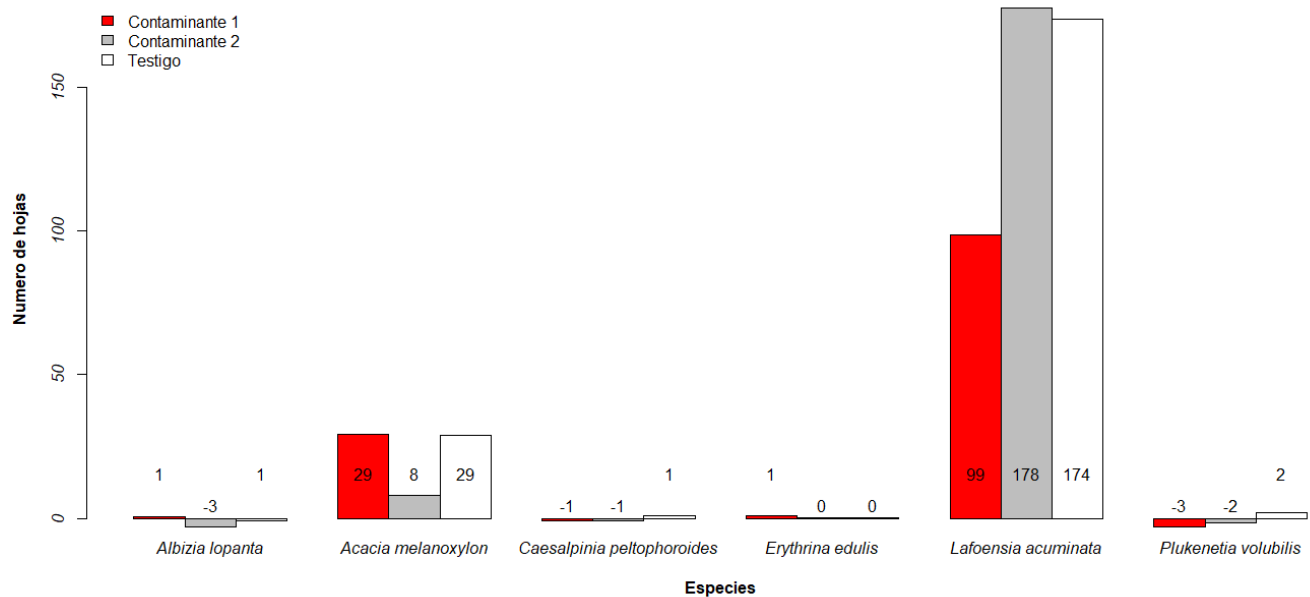


5. 3. 1. *Figura de resultados de la ganancia o pérdida de numero hojas.*

Los resultados arrojaron que la especie con mejor comportamiento en cuanto al aumento en el número de hojas en el tratamiento 2 con respecto al testigo, fue la especie *Lafoensia acuminata*, y la especie con menor comportamiento con respecto al testigo, fue la especie *Albizia lopanta*. La especie con mejor comportamiento en cuanto al aumento en el número de hojas en el tratamiento 1 con respecto al testigo, fue la especie *Erythrina edulis*, y la especie con menor aumento con respecto al testigo, fue la especie *Plukenetia volubilis* (Figura 8)

Figura 8.

Resultados de la ganancia o pérdida de número de hojas que tubo cada especie, en cada tratamiento, en la última medición, en comparación con la primera medición.



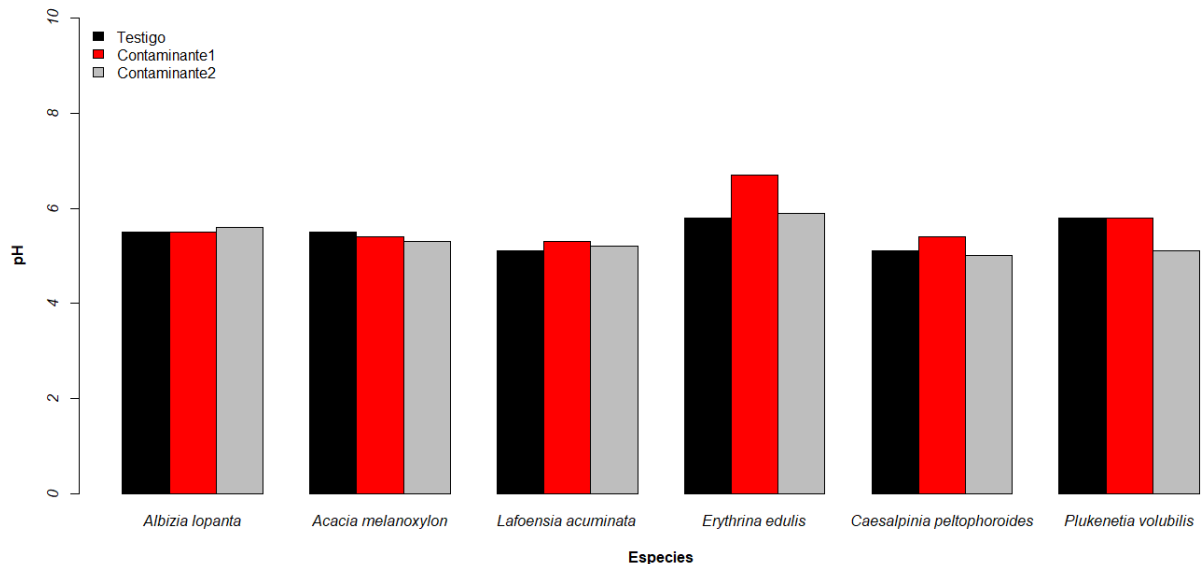
5. 4. Resultados del pH tomado de cada tratamiento y por especie.

Los resultados dan a conocer que para la especie *Albizia lopanta* no hubo diferencia alguna en el tratamiento 1 con respecto al testigo, pero si hubo un pequeño aumento de pH en la concentración 2. Para la especie *Acacia melanoxylon*, se presentó una reducción de pH en los dos tratamientos con respecto al testigo, pero fue mayor la reducción del tratamiento 2. La

especie *Lafoensia acuminata*, refleja un aumento de los dos tratamientos con respecto al testigo, aunque el aumento es mayor en el tratamiento 1. La especie *Erythrina edulis* presentó aumento en los dos tratamientos con respecto al testigo, sin embargo, presentó mayor aumento en el tratamiento 1 y además presenta el mayor aumento de pH con respecto a las demás especies, también pone el pH a un nivel que es el ideal para la absorción de los nutrientes en las plantas. La especie *Caesalpinia eltophoroides* presento un comportamiento similar entre el testigo y el tratamiento 2, pero presenta un aumento en el nivel del pH en el tratamiento 1, la especie *Plukenetia volubilis* demuestra un comportamiento similar entre el testigo y el tratamiento 1, pero presenta una reducción en el tratamiento 2 (Figura 9)

Figura 9.

Comparación comportamiento pH del suelo entre tratamientos.



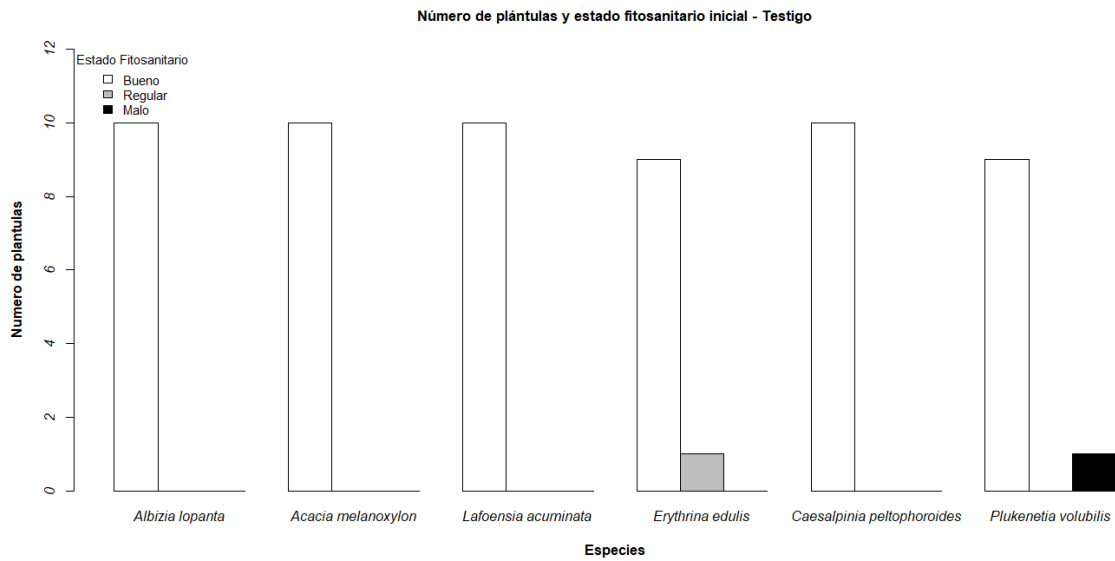
5. 5. Tasa de mortalidad.

Para la evaluación de la tasa de mortalidad en los diferentes tratamientos se evaluó el estado fitosanitario de las especies en los diferentes tratamientos para lo cual se partió de plantas en buen estado, para el tratamiento testigo como se muestra en la (Figura 10), a excepción de la

especie *Plukenetia volubilis* con un individuo muerto y la especie *Erythrina edulis* con un individuo en estado regular.

Figura 10.

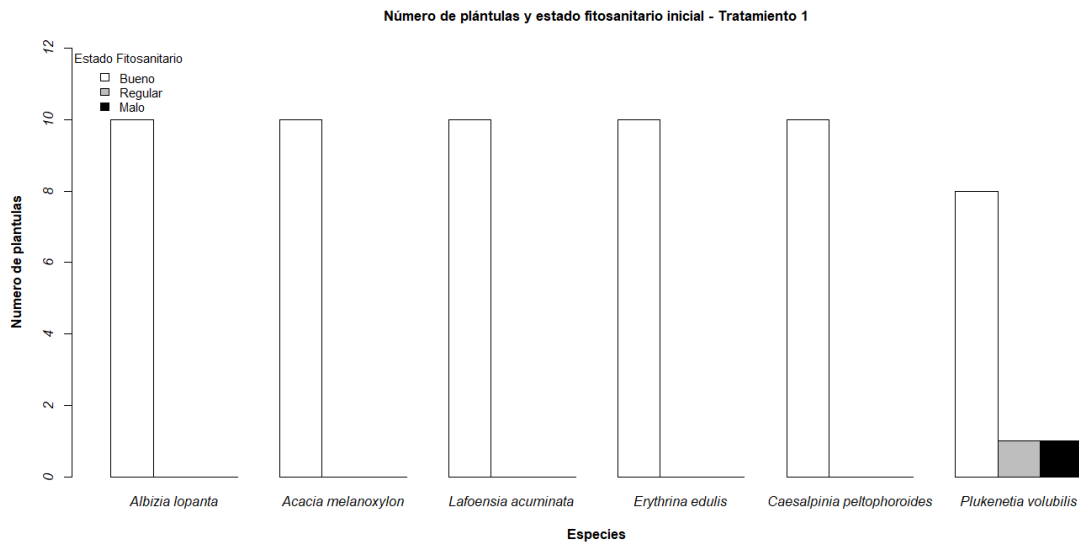
Evaluación inicial de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento testigo.



El estado inicial del tratamiento 1 mostrada en la (Figura 11) con plantas en buen estado a excepción de la especie *Plukenetia volubilis* con un individuo en estado regular y uno en mal estado.

Figura 11.

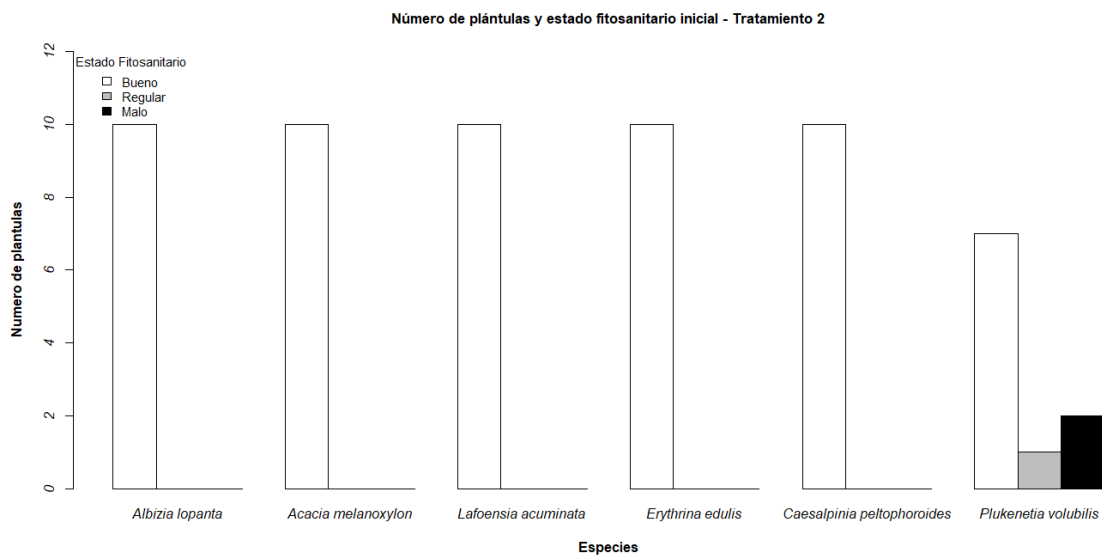
Evaluación inicial de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento 1.



Para la evaluación inicial del tratamiento 2 en la (Figura 12), a excepción de la especie *Plukenetia volubilis* con dos individuos en mal estado y uno en estado regular.

Figura 12.

Evaluación inicial de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento 2.

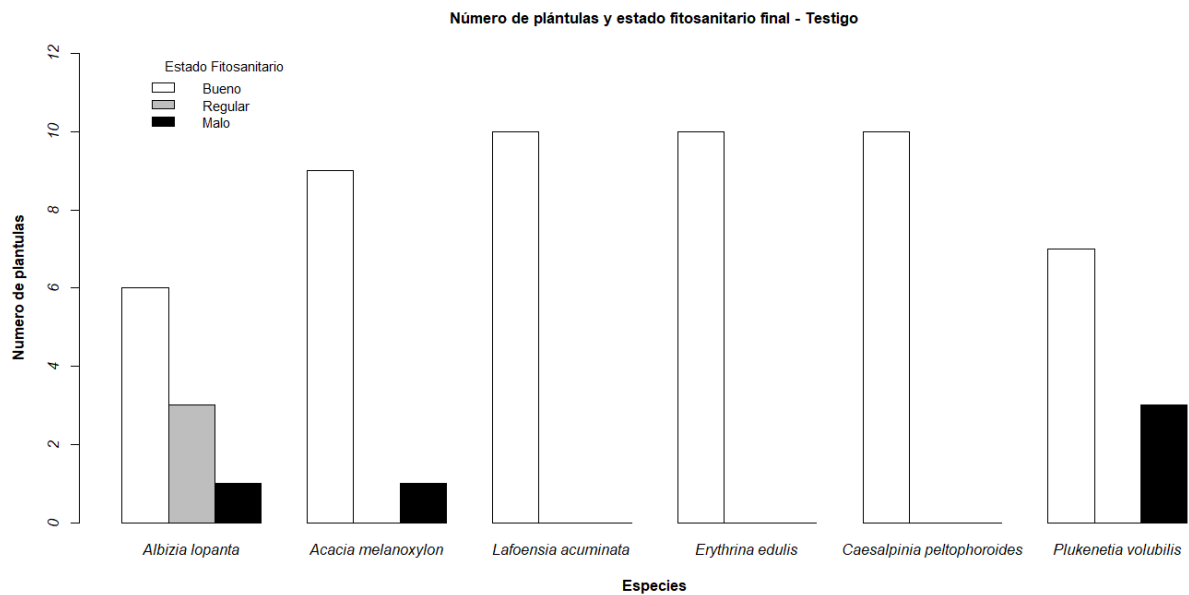


Se determinó que las especies que presentaron mortalidad en todos los tratamientos fueron la *Albizia lopanta*, *Plukenetia volubilis*. En el tratamiento testigo (Figura 13) la especie que

presento mayor tasa de mortalidad fue la *Plukenetia volubilis* con un total de tres individuos muertos seguido de la *Albizia lopanta*, *Acacia melanoxylon* con un individuo muerto cada una.

Figura 13.

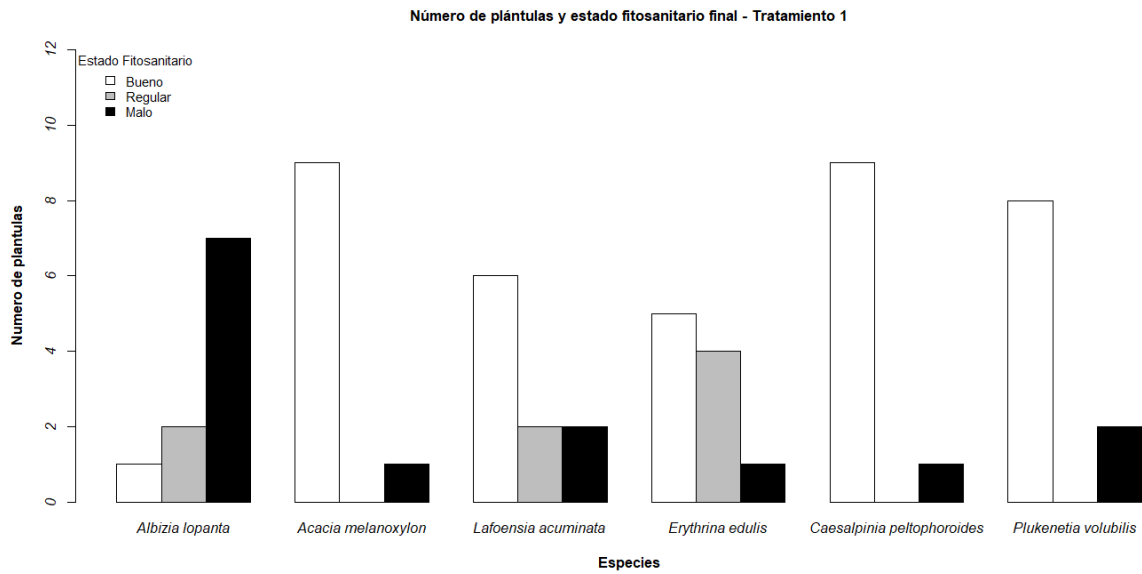
Evaluación final de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento testigo.



En el tratamiento 1 la especie que presentó mayor tasa de mortalidad fue la *Albizia lopanta* con un total de siete individuos muertos, seguido de las especies *Plukenetia volubilis*, *Lafoensia acuminata* con un total de dos individuos muertos cada una y por último con un individuo cada una *Acacia melanoxylon*, *Erythrina edulis* y *Caesalpinia peltophoroides* como se muestra en la (Figura 14).

Figura 14.

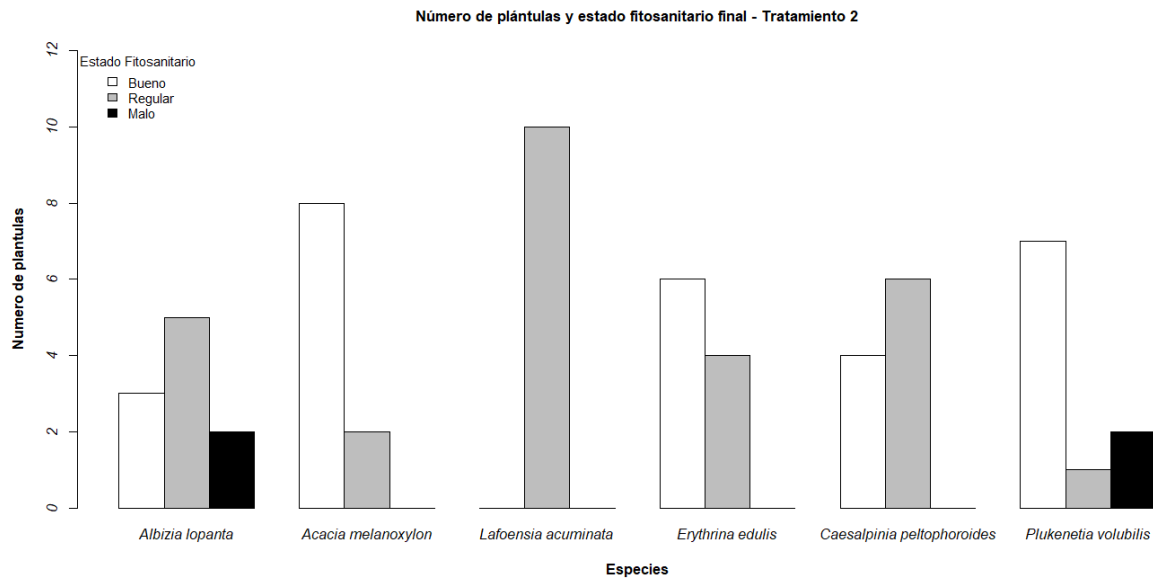
Evaluación final de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento 1.



En el tratamiento 2 las especies que presentaron mayor tasa de mortalidad fue la *Albizia lopanta* con un total de dos individuos muertos, seguido de las especies *Plukenetia volubilis*, con un total de dos individuos muertos igualmente como se muestra en la (Figura15).

Figura 15.

Evaluación final de estado fitosanitario en las plantas, tratamiento 2.



6. Discusión

Antes de considerar el uso de una especie forestal para la restauración de una zona determinada, es de vital importancia conocer detalladamente el lugar de la contaminación sus características, tipo de suelo y el tipo de hidrocarburo o concentración que se derramo en el suelo, por eso, con el fin de dar solución a la creciente problemática de contaminación por derrame de hidrocarburo se realizaron las pruebas, dando resultados bastante significativos ya que se pudo comprobar que las especies vegetales que se presentan en este trabajo son útiles para actividades de fitorremediación y biorremediación. Cinco de las seis especies forestales evaluadas presentaron una tasa de mortalidad baja, dando como respuesta un resultado de cinco especies con capacidad de soportar una posible intoxicación por efecto de hidrocarburos.

Estas fitotecnologías aportan gran cantidad de beneficios relacionados con los métodos fisicoquímicos usados en la actualidad, en contexto, con su amplia aplicabilidad y bajo costo (Delgadillo et al., 2011). Ya que los practicas convencionales requieren de más costos, perjudicando irreversiblemente las propiedades fisicoquímicas de los recursos y los seres vivos que en ellos habitan (Padmavathiamma y Li, 2007).

La fitorremediación utiliza las plantas para remover, reducir, transformar, mineralizar, degradar, volatilizar o estabilizar contaminantes (Kelley et al., 2000; Miretzky et al., 2004; Cherian y Oliveira, 2005; Eapen et al., 2007; Cho et al., 2008). Optar por la implementación de este tipo de estudios a una escala mayor y bajo condiciones ambientales propias del sitio ya que este estudio fue realizado bajo un ambiente y condiciones controladas. Hasta ahora, la mayoría de los trabajos relacionados con la fitocorrección se han llevado a cabo a escala de laboratorio, con plantas cultivadas en condiciones ideales

Un estudio realizado por Pérez-Hernández et al. (2013), con las especies *S. macrophylla* y *H. campechianum* presentaron una tasa de mortalidad y sobrevivencia similar en suelo contaminado o sin contaminación, en contraparte se evidenciaron efectos significativos en el desarrollo fisiológico de la planta. La evaluación del comportamiento en las plántulas de *C. odorata* y *T. rosea* evidencia una mayor mortalidad en suelos contaminados. Pérez-Hernández y colaboradores (2013) recomiendan a *S. macrophylla* para degradar hidrocarburos en suelos contaminados ya que resultó ser la especie más tolerante a las concentraciones y el tipo de petróleo probado. Algo similar se observó en las pruebas realizadas ya que es evidente que la contaminación con hidrocarburos no incide directamente mortalidad de las especies evaluadas, pero sí afecta el crecimiento y estado de las plantas, se observó mayor afectación fue en la especie *Albizia lopanta* ya que se determinó que en el tratamiento 1 y 2 la especie presentó

mayor tasa de mortalidad con respecto a las demás. Es así como Pérez-Hernández et al. (2013) afirman que las especies arbóreas tienen un comportamiento diferente en suelos contaminados con hidrocarburos, ya que realizaron estudios con especies arbóreas evidenciando que el desarrollo en DAC, altura y la biomasa de las especies evaluadas fue menor en suelo contaminado con hidrocarburo pesado y la germinación de las semillas de estas especies no se ve afectada.

Las leguminosas, son consideradas para la fitorremediación por lo que no son competencia para otros microorganismos y plantas por el suministro de nitrógeno disponible en sitios afectados por derrames de petróleo (Gudin & Syrratt 1975, Sangabriel, 2006), los resultados indicaron que las especies pertenecientes a las leguminosas fueron unas de las que mayor aporte hicieron a las condiciones ideales de la acidez en el suelo, además presentaron cambios con gran rapidez gracias a la capacidad de absorción de contaminantes, que ayuda en la desintoxicación del suelo.

7. Conclusiones

Dado que las especies *Plukenetia volubilis* y *Lafoensia acuminata* fueron las que mejor comportamiento tuvo en los tratamientos en cuanto a ganancia DAC y aumento en la altura, con respecto al testigo, serían las especies recomendadas para utilizar como medio de fitorremediación en zonas afectadas con bajas concentraciones de petróleo, con el objetivo de crear las condiciones necesarias para otras especies.

La contaminación con hidrocarburos no incide directamente en el crecimiento o desarrollo de las especies evaluadas a excepción de *Albizia lopanta* ya que se determinó que en el tratamiento 1 y 2 la especie presentó mayor tasa de mortalidad con respecto a las demás.

En cuanto al comportamiento de crecimiento de nuevas hojas o la pérdida de estas el desarrollo fue muy variado los resultados arrojaron que la especie con mejor comportamiento en cuanto al aumento en el número de hojas en el tratamiento 2 *Lafoensia acuminata* y en el tratamiento 1 fueron las especies *Erythrina edulis* y la *Acacia melanoxylon* con respecto al testigo, observando que su respuesta es óptima, en condiciones edafológicas y climáticas similares las muestra como especies a tener en cuenta para restauraciones en suelos afectados por derrame de hidrocarburos.

Experimentar con especies arbóreas para diferentes tipos de remediación de suelos contaminados es muy importante, debido a que tienen una larga longevidad, esto garantiza la fitorremediación de muchos años, además de esto, poseen mayor cantidad de biomasa que las especies herbáceas y sus raíces llegan a profundizar a grandes distancias en los suelos, a comparación de las gramíneas. Sumado a esto contribuyen con temas ambientales, sociales y económicos (Paula et al., Ana, F. 2015).

8. Recomendaciones

Para la continuidad de estudios similares, tener en cuenta la cantidad de hidrocarburos y las concentraciones aplicadas, ya que al variar la cantidad en milímetros y la densidad del hidrocarburo puede alterar el desarrollo y funcionamiento de las plantas.

Analizar los diferentes niveles de absorción de hidrocarburos de cada una de las especies en las diferentes concentraciones para llegar a determinar cuál especie tiene mayor capacidad de retención y así llegar a recomendar una especie con mayores eficacias en diferentes variables.

Será importante realizar un análisis de suelos para identificar cual especie generó una mayor desintoxicación en las cantidades de hidrocarburos presentes para no solo contar con especies que se adapten si no que presenten grandes cantidades de restauración

Se recomienda el desarrollo de más estudios similares utilizando diferentes especies, para así ampliar el listado de plantas aptas para las restauraciones de este tipo.

Bibliografía

- Arellano, P., Tansey, K., Baizter, H., & Tellkamp, M. (2017). Plant Family-Specific Impacts of Petroleum Pollution on Biodiversity and Leaf Chlorophyll Content in the Amazon Rainforest of Ecuador. *PLoS ONE*, 12(1). doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169867>
- Arias, J. A. V. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *RIAA*, 8(1), 151-167.
- Baoune, H., El Hadj-Khelil, A., Pucci, G., Sineli, P., Loucif, L., & Polti, M. A. (2018). Petroleum degradation by endophytic *Streptomyces* spp. isolated from plants grown in contaminated soil of southern Algeria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 602-609. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.013>
- Brakstad, O. G., & Bonaunet, K. (2006). Biodegradation of petroleum hydrocarbons in seawater at low temperatures (0–5 C) and bacterial communities associated with degradation. *Biodegradation*, 17(1), 71-82.
- Brooks, RR (1998). Plantas que hiperacumulan metales pesados, su papel en fitorremediación, microbiología, arqueología, exploración mineral y fitominería
- Carpena, R. O. y M. P. Bernal (2007). “Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos”. *Ecosistemas*, 16 (2), 1-3.
- ccme (2001). Canada-Wide Standards for Petroleum Hydrocarbons (phc) in Soil. Winnipeg: Canadian Council of Ministers of the Environment.
- Chaney, R. L., Malik, M., Li, Y. M., Brown, S. L., Angle, J. S., Baker, A. J. M., (1997). Phytoremediation of soil metals”. *Current Opinion in Biotechnology*, 8: 279 – 284.

- Chow Pangta y Susana, (2002). Petroquímica y Sociedad. Fondo de Cultura Económica Tercera edición, México.
- Cunningham SD, Anderson TA, Schwab AP, Hsu FFC (1996) Phytoremediation of soil contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.* 56: 55-114.
- Delgado, K. T., & Montoya, T. Z. (2009). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Facultad de Mina. Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Trabajo de grado para optar el título de Ingeniería Química.
- Delgadillo-López, A. E., González-Ramírez, C. A., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. R., & Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*,14(2), 597-612.
- Ederra I., A. 1997. Botánica ambiental aplicada, las plantas y el equilibrio ecológico de nuestra tierra. Universidad de Navarra. Pamplona, España. 205 p
- Frick, C. M., R. E. Farrell y J. J. Germida. 1999. Assessment of phytoremediation as an in-situ technique for clearing oilcontaminated sites. Department of Soil Science, University of Saskatchewan. Saskatoon, SK, Canada
- García-López, E., Zavala-Cruz, J., & Palma-López, D. J. (2006). Caracterización de las comunidades vegetales en un área afectada por derrames de hidrocarburos. *Terra Latinoamericana*, 24(1), 17-26.
- Gudin C. y Syrratt W. J. (1975). Biological aspects of land rehabilitation following hydrocarbon contamination. *Environ. Pollut.* 8, 107-112.

INFOSTAT, 2003. InfoStat version 1. 5. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 232 p. [In Spanish].

IRAM (Instituto de Normalización). 1999. Norma 29 410. Determinación del pH.

ITRC. 2001. Phytotechnology. technical and regulatory guidance document. URL http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mbt/maqueda_g_ap/indice.html.

Jiménez, D. L. (2006). Estudio de impacto ambiental generado por un derrame de hidrocarburos sobre una zona estuarina, aledaña al terminal de ecopetrol en Tumaco. (tesis de pregrado). Ingeniería Ambiental Sanitaria. Universidad de la Salle. Bogotá, Colombia.

Kelley, C., Gaither, K. K., Baca-Spry, A., & Cruickshank, B. J. (2000). Incorporation of phytoremediation strategies into the introductory chemistry laboratory. *The Chemical Educator*, 5(3), 140-143.

Kingston, PF (2002). Impacto ambiental a largo plazo de los derrames de petróleo. *Spill Science & Technology Bulletin*, 7 (1-2), 53-61.

Kloster, N. S., Azcarate, M. P., Babinec, F. J., & Bono, A. (2008). comparación de técnicas de medición del ph del suelo: ph en pasta de saturación y en relación suelo: agua 1: 2, 5. In XXI Congreso argentino de Ciencia del Suelo. Semiarido un desafío para la ciencia del suelo Vol. 13).

Lasat, M. M. (2002). Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms. *Journal of environmental quality*, 31(1), 109-120.

- Manios, T., E. I. Stentiford y P. Millner. 2003. Removal of heavy metals from a metaliferous water solution by *Typha latifolia* plants and sewage sludge compost. *Chemosphere* 53: 487-494.
- Martínez, VE (2001). Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso. *Terra latinoamericana*, 19 (1), 9-17.
- 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)
- Ochoa-Gaona, S. et al. (2011). Estudio prospectivo de especies arbóreas promisorias para la fitorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Villahermosa: Gobierno del Estado de Tabasco/Secretaría de Recursos Naturales y Protección Ambiental/El Colegio de la Frontera Sur/Petróleos Mexicanos.
- Olguín, E. J., Hernández, M. E., & Sánchez-Galván, G. (2007). Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y restauración. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 23(3), 139-154.
- Padmavathiamma, P. K., & Li, L. Y. (2007). Phytoremediation technology: hyper-accumulation metals in plants. *Water, Air, and Soil Pollution*, 184(1-4), 105-126.
- Panchenko, L., Muratova, E. a., Dubrovskaya, E., Golubev, S., & Turkovskaya, O. (2017). Dynamics of natural revegetation of hydrocarbon-contaminated soil and remediation potential of indigenous plant species in the steppe zone of the southern Volga Uplands. *Environ Sci Pollut Res*, 1-15. doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0710-y>

- Paula, M., Lara, R., Lucio, M., Mónica, B., Ana, E., Adriana, R., . . . & Ana, F. (2015). Libro de Resúmenes SIACRE 2015.
- Pérez-Hernández, I., Ochoa-Gaona, S., Schroeder, R. A., Rivera-Cruz, M. C., & Geissen, V. (2013). Tolerance of four tropical tree species to heavy petroleum contamination. *Water, Air, & Soil Pollution*, 224(8), 1637.
- Robinson, B. H., Chiarucci, A., Brooks, R. R., Petit, D., Kirkman, J. H., Gregg, P. E. H. y DeDominicis, V. 1997. The nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii* as a potential agent for phytoremediation and phytomining of nickel. *J. Geochem. Exploration* 59: 75-86.
- Rodríguez Machuca, M. A. (2014). Recuperación de áreas impactadas por derrame de hidrocarburos con el proceso de revegetación en el lote 1AB en la zona de Andoas. Loreto–Perú.
- Sangabriel, W., Ferrera-Cerrato, R., Trejo-Aguilar, D., Mendoza-López, M. R., Cruz-Sánchez, J. S., López-Ortiz, C., . . . & Alarcón, A. (2006). Tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 22(2), 63-73.
- SAMLA (Sistema de apoyo metodológico a los laboratorios de análisis de suelos, agua, vegetales y enmiendas orgánicas). 2004. pH del suelo. SAGyP, Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo. Versión en CD.
- Serrano, M. F., Torrado, L. M. & Pérez, D. D. (2013). Impacto de los derrames de crudo en las propiedades mecánicas de suelos arenosos. *Ciencia y Tecnología*. 11, 233-244.

- Shin, E. C. & Das, B. M. (2001). Bearing Capacity of Unsaturated Oil-Contaminated Sand. *International Journal Offshore Polar Engineering* 11, 220-227
- Trujillo-Narcía, A., Rivera-Cruz, M. D. C., Lagunes-Espinoza, L. D. C., palma-lópez, D. J., Soto-Sánchez, S., & Ramírez-valverde, G. (2012). Efecto de la restauración de un fluvisol contaminado con petróleo crudo. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(4), 360-374.
- USEPA (US Environmental Protection Agency). 2000. Introduction to phytoremediation.
- Vázquez M. 2005. Acidez del suelo. En: *Tecnologías en análisis de suelos*. Liliana Marbán y Silvia Ratto. Buenos Aires: AACCS. pp: 69-88
- Vigo, Y., Eugenio, K., & Tuesta Chavez, O. (2018). Prospección de especies arbóreas para la fitorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en el Distrito de Imaza, Bagua, Amazonas. Ortega Rubio, A. M. (2014). La ética y responsabilidad social en el sector petrolero colombiano.
- Viñas, M. 2005. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos: caracterización, microbiología, química y ecotoxicológica. Facultad de biología. Universidad de Barcelona.
- Yáñez, P., & Bárcenas, M. (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*, 15(1), 30-48.

Apéndices



Apéndice A. Trasplante de las plantas utilizadas.




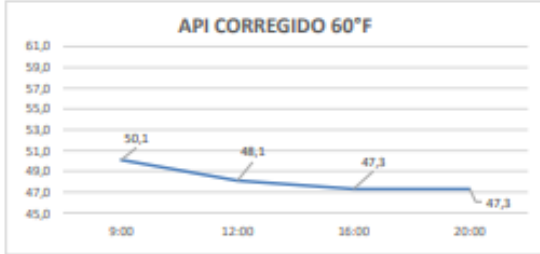

Apéndice B. Toma de datos iniciales.




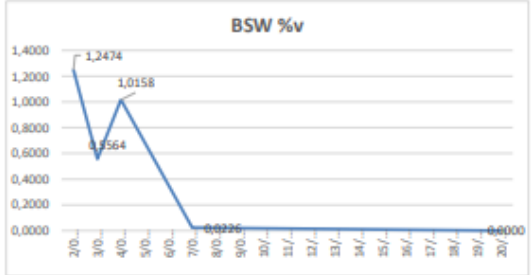

Apéndice C. Plantas antes de la intoxicación con hidrocarburos.



Apéndice D. Intoxicación de las plantas.

	REPORTE DE RESULTADOS No. CIC-CUS-091-19-CR-140-143 API (Rev.0) LABORATORIO DE FÍSICOQUÍMICA - SEDE CUSIANA DETERMINACIÓN DE PRESIÓN DE VAPOR REID EN PRODUCTOS DE PETRÓLEO				DATOS GENERALES		
	Código Muestra:		CR-140-143		Fecha de Recepción:		
	Fecha de Recepción:		12-sep-19		Fecha de Procesamiento:		
		12-sep-19					
Tausama, 13 de Septiembre de 2019							
MUESTREO							
Fecha Muestreo:	12-sep-19	Hora de Muestreo:	-	Presión de Muestreo:	-		
Punto de Muestreo:	Bombas Run down Tren A	Procedimiento de Muestreo:	GS-166	Tipo de Muestreo:	Simple		
Responsable Muestreo:	Cristian Leguizamón	Plan de Muestreo:	No Aplica	Matríz:	Crudo		
CLIENTE							
ECOPETROL GERENCIA DE DESARROLLO Y PRODUCCIÓN PIEDEMONTES CAMPO CUSIANA							
La información señalada con el signo §, fue suministrada por el cliente. El laboratorio de Físicoquímica - Sede Cusiana, no se hace responsable de la veracidad de la información suministrada que puede llegar a tener implicaciones en la validez de los ensayos.							
METODOLOGÍA							
ENSAYO	MÉTODO DE REFERENCIA	CONDICIONES ANÁLISIS		PARÁMETROS ESTADÍSTICOS		ADICIÓN, EXCLUSIÓN, DESVIACIÓN DEL MÉTODO	
Determinación de gravedad API, densidad o densidad relativa de productos líquidos por método de hidrómetro	ASTM D-1298	T (°C):	No Aplica	Incidencia:	N.A.	No Aplica	
				Límite de Cuantificación:	N.A.		
Los ensayos identificados con asterisco (*) fueron subcontratados con: No Aplica							
RESULTADOS							
Fecha	Hora	API Observado	API Corregido 60°F	Temperatura observada °F	Gravedad Específica		
12/09/2019	9:00	51,6	50,1	75,2	0,7792		
	12:00	49,8	48,1	77,0	0,7879		
	16:00	48,1	47,3	68,0	0,7914		
	20:00	48,4	47,3	71,6	0,7914		
OBSERVACIONES Y CONCLUSIONES							
Se realizó medición de API durante el día 12 de Septiembre de 2019 a las 9:00 am, 12:00 m, 4:00 pm y 8:00 pm.							
MODIFICACIONES Y CORRECCIONES AL INFORME REV.0		No Aplica					
RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA(S) MUESTRA(S) ANALIZADA(S) PROHIBIDA TODA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL DE ESTE REPORTE SIN AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO La Incertidumbre se reporta como Incertidumbre combinada (uc). Para expandir aplique: k=2/Concentración, Factor de cobertura, k=2 con un nivel de confianza del 95%.							
Revisó y Autorizó  Anamaria Bonilla W. Responsable Coordinador Laboratorio e-mail: laboratorio_cus@corrosioncic.com Laboratorio CPF Cusiana, Tausama, Casanare-Colombia Tel: 57 - (7) - 234 4000 Ext. 31037 - 31033				Código: GS-F-464 Rev.3			
FIN DEL REPORTE							

Apéndice E. Muestra de hidrocarburo 47,3 API tratamiento 1.

	REPORTE DE RESULTADOS No. CIC-CUS-063-19-CR-093 (Rev.0) LABORATORIO DE FÍSICOQUÍMICA - SEDE CUSIANA DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE AGUA POR KARL FISHER EN PRODUCTOS DE PETRÓLEO			DATOS GENERALES		
	Código Muestra:		CR093			
	Fecha de Recaptión:		20-jun-19			
Fecha de Procesamiento:		20-jun-19				
Tauramena, 08 de Junio de 2019						
MUESTREO						
Fecha Muestreo:	20-jun-19	Hora de Muestreo:	-	Presión de Muestreo:	-	
Punto de Muestreo:	Bombas (ftan down) Ten A	Procedimiento de Muestreo:	GS-1-06	Tipo de Muestreo:	Simple	
Responsable Muestreo:	Luzas Jiménez	Plan de Muestreo:	No Aplica	Matriz:	Crudo	
CLIENTE						
ECOPETROL GERENCIA DE DESARROLLO Y PRODUCCIÓN PIEDEMONTE CAMPO CUSIANA						
La información señalada con el signo §, fue suministrada por el cliente. El laboratorio de Físicoquímica - Sede Cusiana, no se hace responsable de la veracidad de la información suministrada que puede llegar a tener implicaciones en la validez de los ensayos.						
METODOLOGÍA						
ENSAYO	MÉTODO DE REFERENCIA	CONDICIONES ANÁLISIS		PARÁMETROS ESTADÍSTICOS		ADICIÓN, EXCLUSIÓN, DESVIACIÓN DEL MÉTODO
Determinación del contenido de agua en petróleo crudo por titulación potenciométrica Karl Fisher	ASTM D4317	T (°C)	No Aplica	Incidumbre:	NA	No Aplica
				Límite de Cuantificación:	NA	
Los ensayos (identificados con asterisco (*) fueron subcontratados con: No Aplica						
RESULTADOS						
Fecha	Hora	API	API	Temperatura observada °F	BSW (%w/v)	
		Observado	Corregido 60°F			
2/06/2019	16:20	48,20	46,60	77,0	1,2474	
3/06/2019	15:50	49,30	47,80	75,2	0,5564	
4/06/2019	16:10	48,20	47,10	71,6	1,0158	
7/06/2019	11:05	57,70	56,60	69,8	0,0226	
20/06/2019	14:10	>60	N.M	71,6	N.M	
OBSERVACIONES Y CONCLUSIONES						
Se realizó nueva medición de contenido de agua en crudo el día 20 de Junio, obteniéndose un valor en porcentaje peso de 0,11 %p/p. No fue posible determinar el %w/v dado que no se cuenta con hidrómetro con una escala >61° API.						
MODIFICACIONES Y CORRECCIONES AL INFORME REV.0		No Aplica				
RESULTADOS VÁLIDOS ÚNICAMENTE PARA LA(S) MUESTRA(S) ANALIZADA(S) PROHIBIDA TODA REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL DE ESTE REPORTE SIN AUTORIZACIÓN ESCRITA DEL LABORATORIO La incertidumbre se reporta como incertidumbre combinada (uc). Para expandir aplique: k'uc=Concentración. Factor de cobertura, k=2 con un nivel de confianza del 95%.						
Revisó y Autorizó  Anamaria Bonilla Wilchez Responsable Coordinador Laboratorio e-mail: cic.labcomosion@comosion.uis.edu.co Laboratorio CPF Cusiana, Tauramena, Casanare-Colombia Tel: 57 - (7) - 234 4090 Ext. 31037 - 31033				Código: GS-F-464 Rev.0		
FIN DEL REPORTE						

Apéndice F. Muestra de hidrocarburo 56,60 API tratamiento 2.



Apéndice G. Plantas con hidrocarburo.



Apéndice H. Evaluación estado Fito sanitario, observación de hojas.



Apéndice I. hojas con inicios de marchitamiento.



Apéndice J. Evaluación fitosanitaria en las plantas.



Apéndice K. Necrosis en hojas.



Apéndice L. Suspensión de agua por efecto del hidrocarburo.



Apéndice M. Estado final de las plantas.



Apéndice N. Estado final del suelo concentración 2.



Apéndice O. Estado final del suelo concentración 1.



Apéndice P. Muestras de suelo.



Apéndice Q. Toma de pH en el suelo.



Apéndice R. pH-metro de Bolsillo Hanna Hi 98127.