

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA:

INGENIERÍA AMBIENTAL

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

INGENIERA E INGENIERO AMBIENTALES

TEMA:

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FITORREMEDIACIÓN Y TOLERANCIA
DE UN SUELO CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS, EN EL SECTOR SAN
JOSÉ, CANTÓN CUYABENO, PROVINCIA DE SUCUMBÍOS, UTILIZANDO
*PHASEOLUS VULGARIS, ZEA MAYS, SORGHUM VULGARE Y PANICUM MÁXIMUM***

JACQ

AUTORES:

**JESSENIA ALEXANDRA PUENTE ENCALADA
KEVIN ISMAEL CAMPOVERDE RENTERIA**

TUTOR:

EDWIN FABIAN BERSOSA VACA

Quito, marzo del 2022

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Nosotros Jessenia Alexandra Puente Encalada con documento de identificación N° 172578424-1 y Kevin Ismael Campoverde Renteria con documento de identificación N° 110575778-3, manifestamos nuestra voluntad y cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del trabajo de titulación intitulado: *EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FITORREMEDIACIÓN Y TOLERANCIA DE UN SUELO CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS, EN EL SECTOR SAN JOSÉ, CANTÓN CUYABENO, PROVINCIA DE SUCUMBÍOS, UTILIZANDO PHASEOLUS VULGARIS, ZEA MAYS, SORGHUM VULGARE Y PANICUM MÁXIMUM JACQ.* mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: INGENIERA E INGENIERO AMBIENTALES, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

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



Jessenia Alexandra Puente Encalada

CI. 172578424-1



Kevin Ismael Campoverde Renteria

CI. 110575778- 3

Quito, marzo del 2022

DECLARATORIA DE COAUTORÍA DEL DOCENTE TUTOR/A

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el Trabajo Experimental, EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FITORREMEDIACIÓN Y TOLERANCIA DE UN SUELO CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS, EN EL SECTOR SAN JOSÉ, CANTÓN CUYABENO, PROVINCIA DE SUCUMBÍOS, UTILIZANDO *PHASEOLUS VULGARIS*, *ZEA MAYS*, *SORGHUM VULGARE* Y *PANICUM MÁXIMUM JACQ*, realizado por Jessenia Alexandra Puente Encalada y Kevin Ismael Campoverde Rentería, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerado como trabajo final de titulación.

Quito, marzo del 2022

A handwritten signature in blue ink, reading "Edwin Fabian Bersosa Vaca", is written over a horizontal line.

Edwin Fabian Bersosa Vaca

CI. 170920414-1

DEDICATORIA

A Dios, por rodearme de personas que hacen que me supere, y por las bendiciones de cada día.

A mis Padres, Leonel y Gloria, por todos los valores inculcados sobre todo el respeto, perseverancia y dedicación en cada una de mis actividades, por su apoyo incondicional y ese amor excepcional y sobre todo su esfuerzo por darme una profesión.

A mis hermanos, Cristhian y Magali por sus consejos que me impulsaron a continuar y ahora culminar este logro importante en mi vida.

A mi enamorada Carla por su amor, apoyo, confianza y paciencia por haberme acompañado estos 5 años regalándome esos mejores ánimos, siendo un pilar fundamental en mi vida emocional.

A ti Milo, por tu compañía y ese amor constante.

Esta meta fue posible gracias a ustedes, ahora si puede decir que gracias por todo. ¡Lo logramos!

Kevin Campoverde

Dedico este trabajo y nuevo logro de mi vida a Dios mi padre celestial por siempre darme esa fortaleza para seguir adelante sin importar los obstáculos venideros, ya que con su gran bendición me ayudó a cumplir mis propósitos, me cuidó y protegió a cualquier lugar que vaya, fue mi apoyo, mi sostén y mi fortaleza.

A mi compañero y fiel mejor amigo de 4 patas Tony quien me acompañó en todo momento en el transcurso de la realización de este trabajo, sin dejarme sola y sin importar las altas horas de la noche y con sus ocurrencias me sacaba sonrisas y hacia más llevadero cualquier situación.

Jessenia Puente

AGRADECIMIENTO

A Dios, por las bendiciones recibidas, bendiciéndonos y acompañándonos en esta travesía y agradecidos infinitamente por permitirnos llegar a lograr nuestros propósitos.

A nuestros padres, por su amor, sus consejos, su apoyo y su gran sacrificio para poder conseguir una meta más en el ámbito profesional.

A nuestros maestros, por brindarnos sus conocimientos siendo partícipes de nuestra formación universitaria, adquiriendo un parte de sus conocimientos.

A nuestro tutor de trabajo experimental Fabian Bersosa, por su guía en la realización de esta investigación, por su calidad humana, por su tiempo, apoyo y amistad.

A la Universidad Politécnica Salesiana por su acogida convirtiéndose en nuestra segunda casa, por habernos permitido nuestra formación profesional.

A quienes nos colaboraron en campo en la comunidad de San José, Armando Jumbo y Wilfrido Jumbo, así como a la comunidad que nos recibió con los brazos abiertos siempre ayudándonos en cualquier cosa a su alcance.

Kevin y Jessenia

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	XXIII
ABSTRACT.....	XXIV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Problema.....	1
1.2. Delimitación.....	2
1.3. Pregunta de investigación.....	2
1.4. Objetivos.....	3
1.5. Hipótesis.....	3
1.5.1. Hipótesis nula (H0).....	3
1.5.2. Hipótesis alternativa (H1).....	3
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	4
2.1. El Suelo.....	4
2.1.1. Composición del Suelo.....	4
2.1.1.1. Arcilla (Minerales).....	5
2.1.1.2. Materia Orgánica (MO).....	5
2.1.1.3. Gases- Aire.....	5
2.1.2. Propiedades del suelo.....	6

2.1.2.1.	Físicas.	6
2.1.2.1.1.	Textura.	6
2.1.2.1.2.	Estructura.	8
2.1.2.2.	Químicas.	8
2.1.2.2.1.	pH del Suelo.....	8
2.1.2.3.	Biológicas.	9
2.1.3.	Microbiología del Suelo.....	9
2.1.3.1.	Distribución de Microorganismos en el Suelo.....	10
2.1.3.2.	Factores que inciden en el número de bacterias presentes en el suelo.....	10
2.2.	El Petróleo.....	11
3.2.3.	Composición del Crudo.	12
2.3.	Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH).	12
2.3.1.	Metodologías para Determinar TPH en el Suelo.	12
2.3.1.1.	Extracción.	12
2.3.1.2.	Cuantificación.	13
2.4.	Contaminación del suelo por hidrocarburos.	13
2.4.1.	Consecuencias de la presencia de hidrocarburos en el suelo.	13
2.5.	Legislación ambiental (Protocolos).	14
2.5.1.	Constitución de la Republica del Ecuador	14
2.5.2.	Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente (TULSMA)...	15
2.5.3.	Acuerdo Ministerial 100-A que expide al Reglamento ambiental de actividades hidrocarburíferas (RAHOE).....	16

2.6.	Degradación natural.....	16
2.7.	Microorganismos degradadores de hidrocarburos.....	17
2.8.	Fitorremediación.....	17
2.8.1.	Definición.....	17
2.8.2.	Inicio y desarrollo de la fitorremediación.....	17
2.8.3.	Perspectivas para el futuro de la fitorremediación.....	18
2.8.4.	Características de la fitorremediación.....	18
2.8.5.	Ventajas de la fitorremediación.....	19
2.8.6.	Desventajas de la fitorremediación.....	19
2.8.7.	Plantas más utilizadas en fitorremediación.....	20
2.8.8.	Mecanismos de la fitorremediación.....	20
2.8.9.	Interacción Planta-Microorganismo.....	22
2.8.10.	Fases de la fitorremediación en una especie vegetal fitorremediadora.....	23
2.8.11.	Fitorremediación de contaminantes orgánicos.....	24
2.8.12.	Alternativas para la obtención de especies vegetales útiles para fitorremediación de hidrocarburos.....	25
2.9.	Descripción de las especies vegetales utilizadas.....	26
2.9.1	<i>Phaseolus vulgaris</i>	26
2.9.2.	<i>Zea mays</i>	28
2.9.3.	<i>Sorghum vulgare</i>	29
2.9.4.	<i>Panicum máximum</i> jacq.....	31
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	33

3.1.	Diseño experimental.	33
3.2.	Tratamientos del Ensayo.....	33
3.3.	Análisis estadístico.....	34
3.4.	Población y muestra.....	34
3.5.	Nomenclatura utilizada.	35
3.6.	Variables.	37
3.7.	Recogida de datos	37
3.8.	Protocolo.....	39
3.8.1.	Fase de Campo.....	39
3.8.1.1.	Área de estudio.	39
3.8.1.2.	Georreferenciación.....	39
3.8.1.3.	Obtención del Hidrocarburo.	40
3.8.1.4.	Muestreo de la Flora del Área de Estudio.....	40
3.8.1.5.	Preparación del Terreno.	42
3.8.1.6.	Adición del Hidrocarburo.	43
3.8.1.7.	Recolección de Muestras del Suelo.....	43
3.8.1.8.	Siembra.	45
3.8.1.9.	Requerimientos nutricionales para cada especie vegetal.	45
3.8.1.10.	Distribución del tratamiento.....	46
3.8.2.	Fase de laboratorio.....	48

3.8.2.1. Análisis fisicoquímico del suelo.	48
3.8.2.1.1. pH.	48
3.8.2.1.2 Textura.	49
3.8.2.1.3. Conductividad eléctrica.	50
3.8.2.1.4. Humedad.	50
3.8.2.1.5. Nitrógeno total.	51
3.8.2.1.6. Fósforo asimilable.	53
3.8.2.1.7. Carbono orgánico total (CO).	53
3.8.2.1.8. Potasio.	54
3.8.2.2. Análisis microbiológico.	55
3.8.2.2.1. Siembra de microorganismos.	55
3.8.2.2.2. Caracterización de microorganismos nativos.	55
3.8.2.2.3. Características bioquímicas.	57
3.8.2.2.4. Determinación de unidades formadoras de colonias (UFC).	58
3.8.2.3. Extracción de TPH de Muestras de Suelo.	59
3.8.2.5. Análisis cuantitativo de los TPH de las muestras.	60
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	61
4.1. Análisis Fisicoquímicos.	61
4.1.1. Textura del suelo.	61
4.1.1. pH.	62
4.1.2. Conductividad Eléctrica (σ)	66
4.1.3. Humedad	69

4.1.4.	Carbono Orgánico Total (CO).	73
4.1.5.	Nitrógeno (N).	77
4.1.6.	Fósforo (P).	80
4.1.7.	Potasio (K).	83
4.2.	Análisis Microbiológicos.	87
4.2.1.	Tinción Gram	87
4.2.2.	Pruebas Bioquímicas	87
4.2.3.	UFC.	89
4.3.	Análisis estadísticos.	91
4.3.1.	Análisis de variables vs TPH.	91
4.3.1.1.	Altura de la planta.	91
4.3.1.2.	Diámetro de la planta	98
4.3.1.3.	Biomasa aérea.	106
4.3.1.4.	Biomasa radicular.	114
4.3.1.5.	Número de hojas.	121
4.3.1.6.	Flores.	134
4.3.1.7.	Frutos	139
4.3.2.	Análisis de TPH vs Concentración.	143
4.3.3.	Análisis de TPH vs Tiempo.	149
4.3.4.	Análisis de TPH vs especie.	153
4.3.5.	% de remoción vs tratamientos.	155
4.3.6.	Cumplimiento de la normativa ecuatoriana.	158
4.3.7.	Relación Costos- Beneficio respecto a la especie vegetal.	159

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	162
5.1. Conclusiones.....	162
5.2. Recomendaciones.....	163
6. BIBLIOGRAFÍA.....	164
7. ANEXOS.....	173

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación de las partículas del suelo.....	7
Tabla 2 Clasificación de acidez del suelo	9
Tabla 3 Influencia del pH en el número de microorganismos	10
Tabla 4 Influencia de la proximidad de las raíces en el número de microorganismos	11
Tabla 5 Criterios de calidad del suelo	15
Tabla 6 Criterios de remediación	15
Tabla 7 Límites permisibles para la remediación e identificación de suelos contaminados por hidrocarburos	16
Tabla 8 Clasificación Taxonómica <i>Phaseolus vulgaris</i>	26
Tabla 9 Clasificación Taxonómica <i>Zea mays</i>	28
Tabla 10 Clasificación Taxonómica <i>Sorghum vulgare</i>	30
Tabla 11 Clasificación Taxonómica <i>Panicum máximum</i> jacq	31
Tabla 12 Diseño experimental.....	33
Tabla 13 Tratamientos aplicados.....	33
Tabla 14 Descripción de cada tratamiento	34
Tabla 15 Coordenadas del experimento	39
Tabla 16 Especies vegetales encontradas en el área del proyecto.....	42
Tabla 17 Criterios de evaluación de pH respecto a un suelo	49
Tabla 18 Determinación de textura del suelo.....	61
Tabla 19 Máximos, mínimos y media de pH antes y después del ensayo experimental	62
Tabla 20 Máximos, mínimos y media de conductividad eléctrica antes y después del ensayo experimental.....	66

Tabla 21 Máximos, mínimos y media de humedad antes y después del ensayo experimental	70
Tabla 22 Máximos, mínimos y media de carbono orgánico antes y después del ensayo experimental.....	73
Tabla 23 Máximos, mínimos y media de nitrógeno antes y después del ensayo experimental	77
Tabla 24 Máximos, mínimos y media de fósforo antes y después del ensayo experimental ..	80
Tabla 25 Máximos, mínimos y media de potasio antes y después del ensayo experimental ..	84
Tabla 26 Resultados de Tinción Gram	87
Tabla 27 Resultados de la prueba Tukey al 5% y sus agrupaciones	156
Tabla 28 %Remoción total por especie.	158
Tabla 29 Cumplimiento o incumplimientos de los límites máximos permisibles	159
Tabla 30 Costos de las actividades para la preparación del terreno y mantenimiento de las especies vegetales.	160
Tabla 31 Costo - Beneficio respecto a la especie vegetal.	161

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Composición del suelo.....	5
Figura 2 Triángulo textural del suelo.....	7
Figura 3 Mecanismos de Fitorremediación.....	22
Figura 4 Nomenclatura aplicada.	36
Figura 5 Mapa de ubicación del área de estudio.....	40
Figura 6 Distribución del área para el método de cuadrantes.	41
Figura 7 Muestreos sistemáticos.....	44
Figura 8 Distribución del área utilizada en el proyecto experimental para los cultivos de Phaseolus vulgaris, Zea mays, Sorghum vulgare y Panicum máximum jacq, en el sector San José provincia de Sucumbíos.....	47
Figura 9 pH antes del ensayo experimental.	64
Figura 10 pH después del ensayo experimental.....	65
Figura 11 Conductividad eléctrica antes del ensayo experimental.	68
Figura 12 Conductividad eléctrica después del ensayo experimental.....	69
Figura 13 Humedad antes del ensayo experimental.....	71
Figura 14 Humedad después del ensayo experimental.	72
Figura 15 Carbono orgánico antes del ensayo experimental.	75
Figura 16 Carbono Orgánico después del ensayo experimental.	76
Figura 17 Nitrógeno antes del ensayo experimental.....	79
Figura 18 Nitrógeno después del ensayo experimental	79
Figura 19 Fósforo antes del ensayo experimental.....	82
Figura 20 Fósforo después del ensayo experimental	83

Figura 21 Potasio antes del ensayo experimental	85
Figura 22 Potasio después del ensayo experimental.....	86
Figura 23 Resultados pruebas bioquímicas.....	88
Figura 24 UFC, inicio y final del ensayo experimental.....	90
Figura 25 Altura vs TPH a los 15 días	91
Figura 26 Altura vs TPH a los 30 días	92
Figura 27 Altura vs TPH a los 45 días	92
Figura 28 Altura vs TPH a los 60 días	93
Figura 29 Altura vs TPH a los 75 días.....	94
Figura 30 Altura vs TPH a los 90 días	95
Figura 31 Altura vs TPH a los 105 días.....	95
Figura 32 Altura vs TPH a los 120 días.....	96
Figura 33 Análisis de varianza de altura, TPH vs especie.....	97
Figura 34 Altura vs especies.....	98
Figura 35 Diámetro vs TPH a los 15 días.....	99
Figura 36 Diámetro vs TPH a los 30 días.....	99
Figura 37 Diámetro vs TPH a los 45 días.....	100
Figura 38 Diámetro vs TPH a los 60 días.....	101
Figura 39 Diámetro vs TPH a los 75 días.....	101
Figura 40 Diámetro vs TPH a los 90 días.....	102
Figura 41 Diámetro vs TPH a los 105 días.....	103
Figura 42 Diámetro vs TPH a los 120 días.....	103
Figura 43 Análisis de varianza de diámetro, TPH vs especie.....	104

Figura 44 Diámetro vs especies	105
Figura 45 Biomasa aérea vs TPH a los 15 días.....	106
Figura 46 Biomasa aérea vs TPH a los 30 días.....	106
Figura 47 Biomasa aérea vs TPH a los 45 días.....	107
Figura 48 Biomasa aérea vs TPH a los 60 días.....	108
Figura 49 Biomasa aérea vs TPH a los 75 días.....	108
Figura 50 Biomasa aérea vs TPH a los 90 días.....	109
Figura 51 Biomasa aérea vs TPH a los 105 días.....	110
Figura 52 Biomasa aérea vs TPH a los 120 días.....	110
Figura 53 Análisis de varianza de biomasa aérea, TPH vs especie	112
Figura 54 Biomasa aérea vs especie.	113
Figura 55 Biomasa radicular vs TPH a los 15 días.....	114
Figura 56 Biomasa radicular vs TPH a los 30 días.....	114
Figura 57 Biomasa radicular vs TPH a los 45 días.....	115
Figura 58 Biomasa radicular vs TPH a los 60 días.....	116
Figura 59 Biomasa radicular vs TPH a los 75 días.....	116
Figura 60 Biomasa radicular vs TPH a los 90 días.....	117
Figura 61 Biomasa radicular vs TPH a los 105 días.....	118
Figura 62 Biomasa radicular vs TPH a los 120 días.....	118
Figura 63 Análisis de varianza de biomasa radicular, TPH vs especie.....	119
Figura 64 Biomasa radicular vs especie.....	120
Figura 65 Número de hojas en buen estado vs TPH a los 15 días	121
Figura 66 Número de hojas en buen estado vs TPH a los 30 días	121

Figura 67 Número de hojas en buen estado vs TPH a los 45 días	122
Figura 68 Número de hojas en buen estado vs TPH a los 60 días	123
Figura 69 Número de hojas en buen estado vs TPH a los 75 días	124
Figura 70 Número de hojas en buen estado vs TPH a los 90 días	124
Figura 71 Número de hojas en buen estado vs TPH a los 105 días	125
Figura 72 Número de hojas en buen estado vs TPH a los 120 días	126
Figura 73 Análisis de varianza de hojas en buen estado, TPH vs especie	127
Figura 74 Número de hojas en mal estado vs TPH a los 15 días	128
Figura 75 Número de hojas en mal estado vs TPH a los 30 días	129
Figura 76 Número de hojas en mal estado vs TPH a los 45 días	129
Figura 77 Número de hojas en mal estado vs TPH a los 60 días	130
Figura 78 Número de hojas en mal estado vs TPH a los 75 días	131
Figura 79 Número de hojas en mal estado vs TPH a los 90 días	131
Figura 80 Número de hojas en mal estado vs TPH a los 105 días	132
Figura 81 Número de hojas en mal estado vs TPH a los 120 días	133
Figura 82 Análisis de varianza de hojas en mal estado, TPH vs especie	133
Figura 83 Número de flores vs TPH a los 60 días	135
Figura 84 Número de flores vs TPH a los 75 días	135
Figura 85 Número de flores vs TPH a los 90 días	136
Figura 86 Número de flores vs TPH a los 105 días	137
Figura 87 Número de flores vs TPH a los 120 días	137
Figura 88 Análisis de varianza de flores, TPH vs especie	138
Figura 89 Número de frutos vs TPH a los 60 días	139

Figura 90 Número de frutos vs TPH a los 75 días.....	140
Figura 91 Número de frutos vs TPH a los 90 días.....	140
Figura 92 Número de frutos vs TPH a los 105 días.....	141
Figura 93 Número de frutos vs TPH a los 120 días.....	142
Figura 94 Análisis de varianza de frutos, TPH vs especie.....	143
Figura 95 Concentración de <i>Zea mays</i> vs TPH.....	144
Figura 96 Análisis de varianza de la concentración de <i>Zea mays</i>	144
Figura 97 Concentración de <i>Phaseolus vulgaris</i> vs TPH.....	145
Figura 98 Análisis de varianza de la concentración de <i>Phaseolus vulgaris</i>	146
Figura 99 Concentracion de <i>Sorghum vulgare</i> vs TPH.....	146
Figura 100 Análisis de varianza de la concentración de <i>Sorghum vulgare</i>	147
Figura 101 Concentración de <i>Panicum máximum</i> jacq vs TPH.....	148
Figura 102 Análisis de varianza de la concentración de <i>Panicum máximum</i> jacq.....	148
Figura 103 TPH vs tiempo.....	149
Figura 104 TPH vs tiempo de <i>Phaseolus vulgaris</i>	150
Figura 105 TPH vs tiempo de <i>Sorghum vulgare</i>	151
Figura 106 TPH vs tiempo de <i>Panicum máximum</i> jacq.....	152
Figura 107 Análisis de varianza de especies vs Tiempo.....	152
Figura 108 TPH vs especies en cada concentración.....	153
Figura 109 TPH vs especies.....	154
Figura 110 Especie vs concentración.....	155
Figura 111 % de remoción de los distintos tratamientos.....	157

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Humedad	51
Ecuación 2 Nitrógeno Total	52
Ecuación 3 % de materia orgánica	54
Ecuación 4 % de carbono orgánico	54
Ecuación 5 Método gravimétrico	60

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 Toma de coordenadas	173
ANEXO 2 Preparación del terreno	173
ANEXO 3 Método de cuadrantes	174
ANEXO 4 Colocación de crudo	175
ANEXO 5 Siembra	175
ANEXO 6 Toma de muestras de suelo.....	176
ANEXO 7 Fertilización y control de plagas.....	177
ANEXO 8 Método de Bouyoucos	178
ANEXO 9 Conductividad y pH.....	179
ANEXO 10 Humedad.....	180
ANEXO 11 Carbono Orgánico total.....	180
ANEXO 12 Análisis de hidrocarburos, método SOXHLET EXTRACTION	182
ANEXO 13 Extracción del disolvente, método gravimétrico	183
ANEXO 14 Siembra de microorganismos	184
ANEXO 15 Contero Microbiano.....	187
ANEXO 16 Pruebas Bioquímicas	188
ANEXO 17 Especies vegetales	189
ANEXO 18 Valores de pH antes y después	190
ANEXO 19 Valores de conductividad eléctrica antes y después	190
ANEXO 20 Valores de humedad antes y después.....	191
ANEXO 21 Valores de carbono orgánico antes y después	191
ANEXO 22 Valores de nitrógeno antes y después	192

ANEXO 23 Valores de fósforo antes y después.....	192
ANEXO 24 Valores de potasio antes y después.....	193
ANEXO 25 valores UFC antes y después	194
ANEXO 26 Promedio de las variables evaluadas durante los 120 días de duración del estudio de cada especie y concentración.	195
ANEXO 27 Promedio de la cuantificación de TPH	198

RESUMEN

La fitorremediación es una técnica para recuperar suelos contaminados, que consiste en aprovechar la capacidad de una especie vegetal para acumular, metabolizar y absorber contaminantes existentes en el suelo, la selección de las plantas es clave para lograr óptimos resultados. En el presente ensayo experimental se estudió la capacidad de fitorremediación y tolerancia de 4 especies vegetales *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays*, *Sorghum vulgare* y *Panicum máximum* jacq en concentraciones de 1000,5000 y 10000 ppm evaluadas en distintos tratamientos incluyendo al testigo (0 ppm). El estudio se realizó en la provincia de Sucumbíos cantón Cuyabeno, la siembra y seguimiento del estudio fue *in situ*, se analizaron parámetros fisicoquímicos y microbiológicos al inicio y final del estudio. Las mediciones de las distintas variables se evaluaron cada 15 días, obteniendo un total de 8 mediciones a lo largo de los cuatro meses de duración de la investigación, para la cuantificación de TPH se utilizó la metodología de extracción SOXHLET y método gravimétrico. En el análisis estadístico de los resultados se empleó un ANOVA con una prueba Tukey al 5% realizada en el software R-studio con un arreglo factorial de 4x4. Se determinó como resultado que la especie *Panicum máximum* jacq alcanzó una remoción del 47% siendo la planta con mayor capacidad de fitorremediación. En la parte microbiológica se apreció un incremento de UFC al finalizar el ensayo especialmente en las especies *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq, en los análisis fisicoquímicos se observó una disminución en pH, humedad, Carbono orgánico y potasio, mientras que conductividad eléctrica, nitrógeno y fósforo se incrementaron a comparación de los primeros análisis.

Palabras claves: Fitorremediación, especie vegetal, TPH, concentración, variables de estudio

ABSTRACT

Phytoremediation is a technique to recover contaminated soils, which consists of taking advantage of the capacity of a plant species to accumulate, metabolize and absorb existing contaminants in the soil, the selection of plants is key to achieving optimal results. In this experimental trial, the phytoremediation capacity and tolerance of 4 plant species *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays*, *Sorghum vulgare* and *Panicum maximum jacq* were studied at concentrations of 1000, 5000 and 10000 ppm evaluated in different treatments including the control (0 ppm). The study was carried out in the province of Sucumbíos, Cuyabeno canton, planting and monitoring of the study was in situ, physicochemical and microbiological parameters were analyzed at the beginning and end of the study. The measurements of the different variables were evaluated every 15 days, obtaining a total of 8 measurements throughout the four months of the investigation. For the quantification of TPH, the SOXHLET extraction methodology and the gravimetric method were used. In the statistical analysis of the results, an ANOVA was used with a 5% Tukey test performed in the R-studio software with a 4x4 factorial arrangement. As a result, it was determined that the species *Panicum maximum jacq* reached a removal of 47%, being the plant with the highest phytoremediation capacity. In the microbiological part, an increase in CFU was observed at the end of the trial, especially in the species *Phaseolus vulgaris* and *Panicum maximum jacq*. In the physicochemical analyzes, a decrease in pH, humidity, organic carbon and potassium was observed, while electrical conductivity, nitrogen and phosphorus increased compared to the first analyzes.

Keys words: Phytoremediation, plant species, TPH, concentration, study variables

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Problema.

Ecuador tras cuatro décadas desde que se convirtió en un país exportador de hidrocarburos, ha sido una parte estratégica para la economía del Estado y una de las principales fuentes de ingresos (PETROECUADOR, 2013). En el año 2020 la producción promedio de crudo fue de 500000 barriles por día (Torres, 2020), de los cuales el 70% son extraídos por empresas públicas (Juteau-Martineau, et al., 2018).

En la Región Amazónica del Ecuador las principales provincias con pozos petroleros son Orellana y Sucumbíos con 801 pozos, a su vez los cantones con mayor número de pozos dentro de estas dos provincias son Lago Agrio, Shushufindi, Joya de los Sachas y Orellana. (Carrasco, 2017)

Desde finales de la década de los 60, la explotación petrolera en el nororiente ecuatoriano ha causado una gran contaminación medioambiental con fuertes impactos ambientales, económicos, sociales y sanitarios (Juteau-Martineau, et al., 2018), en donde las empresas encargadas de su extracción no han acatado plenamente con las leyes y reglamentos de corrección, prevención y mitigación que impone la legislación ecuatoriana sobre temas hidrocarburíferos (Barcenás y Yáñez, 2012).

Cando, Miguel (2011) manifiesta que cuando el suelo es afectado, las propiedades físicoquímicas (pH, textura, baja capacidad de crecimiento vegetal) y microbiológicas se van a ver comprometidas, además de afectar a los cuerpos de agua subterráneos. Por lo tanto, para remediar áreas afectadas por crudo existen diferentes tratamientos (físicos, químicos y biológicos), en donde los biológicos económicamente más accesibles y ambientalmente seguros.

Debido a la demanda e incremento por la obtención de hidrocarburo a nivel mundial, se han presentado eventos accidentales como son los derrames, los cuales son provocados por la extracción, producción, almacenamiento o transporte de petróleo, siendo estas las principales causas de la contaminación, por lo tanto, se debe tomaren cuenta medidas mitigantes, de respuesta inmediata y preventivas ante dichos derrames de hidrocarburos (Cruz y Lincango, 2021).

Con este estudio se busca proporcionar información útil para solucionar problemas relacionados con suelos contaminados por TPH mediante la implementación de especies vegetales, con la finalidad de ser viable para que industrias y comunidades puedan aplicarla y de esta forma puedan contribuir a frenar el deterioro progresivo de la calidad medioambiental, ya que en la actualidad ha generado una amenaza real a la salud pública.

1.2.Delimitación.

La presente investigación se la realizó en el Oriente ecuatoriano en la provincia de Sucumbíos, cantón Cuyabeno Sector San José, utilizando un área de 72.96 m², en donde se evaluará la capacidad de fitorremediación y tolerancia de cuatro especies vegetales (*Phaseolus vulgaris*, *Zea mays*, *Sorghum vulgare* y *Panicum máximum* jacq) a diferentes concentraciones de TPH en un tiempo de 120 días.

1.3.Pregunta de investigación.

- ¿ Qué especies vegetales entre *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays*, *Sorghum vulgare* y *Panicum máximum* jacq, tienen mayor tolerancia y capacidad de fitorremediación en un suelo contaminado por hidrocarburo?

1.4.Objetivos.

1.4.1. Objetivo General.

Determinar la tolerancia y capacidad de fitorremediación de hidrocarburo presente en el suelo utilizando 4 especies vegetales, aplicándolas en distintos tratamientos.

1.4.2. Objetivo específico.

- Determinar la capacidad de fitorremediación de las 4 especies vegetales a diferentes concentraciones de hidrocarburo en el suelo.
- Evaluar la tolerancia de las 4 especies vegetales a las diferentes concentraciones de hidrocarburo.
- Establecer una relación entre la concentración de TPH removidos y las variables evaluadas en las plantas.

1.5.Hipótesis.

1.5.1. Hipótesis nula (H0).

Phaseolus vulgaris, *Zea mays*, *Sorghum vulgare* y *Panicum máximum* jacq tienen la misma tolerancia y capacidad de fitorremediar un suelo contaminado con hidrocarburo.

1.5.2. Hipótesis alternativa (H1).

Phaseolus vulgaris, *Zea mays*, *Sorghum vulgare* y *Panicum máximum* jacq, tienen diferente tolerancia y capacidad de fitorremediar un suelo contaminado con hidrocarburo.

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. El Suelo.

La palabra suelo proviene del término latín “Solum” significando tierra sólida, las ciencias encargadas de estudiar el suelo se denominan ciencias del suelo, donde se destaca la Edafología que estudia la composición, formación y funciones del suelo además del entorno que lo rodea. Se conoce que los primeros estudios científicos del suelo se realizaron en el siglo XIX en Rusia, en donde se identificaba por vez primera que los suelos están constituidos por varias capas (Cando, 2011).

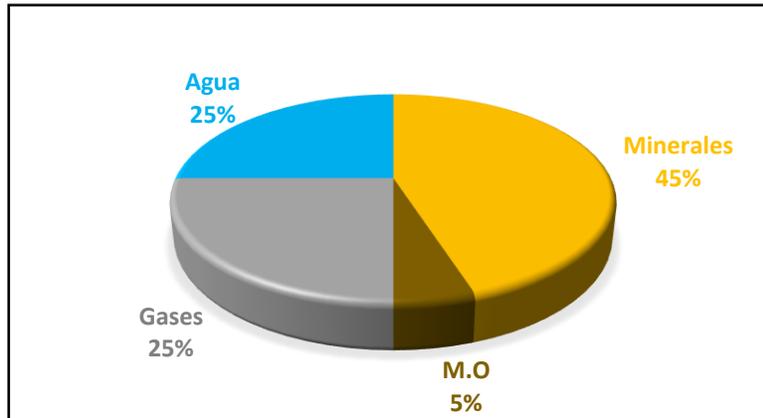
Según (Pereira et al., 2011), mencionan que el suelo se considera como un ser natural estructurado, para su evolución y formación va a depender de factores bióticos y abióticos, de igual manera se encuentra en constante cambio y esto se debe al clima, microorganismos, tiempo, vegetación y topografía los cuales intervienen sobre el material parental es decir la roca madre.

2.1.1. *Composición del Suelo.*

El suelo está compuesto principalmente por una parte sólida, llamada Fase Sólida que posee arcilla (minerales) y una pequeña porción de materia orgánica (MO), esta a su vez constituye el 50% del total del suelo (45% minerales - 5% MO), un 25% ocupado por gases y el otro 25% por agua de tipo higroscópica y capilar (Pereira et al., 2011).

Dentro de la fase sólida la materia orgánica y las arcillas (minerales) dependen del clima y el uso que se le dé al suelo ya sea para agricultura o ganadería (Pereira et al., 2011).

Figura 1
Composición del suelo.



Nota. Representación gráfica de la composición del suelo (Los autores, 2021)

2.1.1.1. Arcilla (Minerales).

La arcilla es el principal componente del suelo representando el 45 % del volumen total del mismo, en donde el mineral predominante es el dióxido de silicio (SiO_2) y con menor cantidad el hierro (Fe), aluminio (AL), calcio (Ca), potasio (K), magnesio (Mg), azufre (S), sodio (Na), nitrógeno (N), titanio (Ti), fósforo (P) y el manganeso (Mn) (Pereira et al., 2011).

2.1.1.2. Materia Orgánica (MO).

Representando al 5 % del volumen del suelo, la materia orgánica proviene de residuos vegetales, animales, y productos del metabolismo microbiano como es el humus, el mismo que tiene la porción más estable de MO, ya que existe una cantidad considerable de microorganismos que contribuyen a descomponer algunos elementos, a esto se le conoce como ciclo natural de degradación (Pereira et al., 2011).

2.1.1.3. Gases- Aire.

Ambos compuestos representan el volumen de poros, ocupando un 25 % el agua y el otro 25 % el aire, del volumen total del suelo. Las proporciones agua-aire varían considerablemente dependiendo la humedad del suelo.

2.1.2. *Propiedades del suelo.*

El suelo posee propiedades físicas, químicas y biológicas.

2.1.2.1. Físicas.

Formadas por minerales, materia orgánica, gases y agua. La cantidad de arena, limo y arcilla determinan la textura, la estructura, volumen y la profundidad efectiva del suelo. Las propiedades físicas van a influir en el almacenamiento y movimiento del agua en el suelo y la absorción de la planta, además interviene indirectamente en la absorción de nutrientes, en el desarrollo radicular y emergencia de las plántulas (Velazques, 2003).

En las propiedades físicas se encuentra la textura, densidad, estructura, porosidad, profundidad, color, drenaje, pedregosidad entre otras (Pereira et al., 2011). A continuación, se describen las más sobresalientes:

2.1.2.1.1. *Textura.*

Indica la distribución del tamaño de las partículas sólidas de las cuales se compone el suelo (Pereira et al., 2011). Se presenta su clasificación:

- **Arenosos:** Suelos permeables al agua, aire y fácilmente trabajables, es decir son suelos relativamente sueltos, livianos, pero tienen baja fertilidad (Tacuarembó, 2015).
- **Arcillosos:** los suelos arcillosos o suelos pesados si están húmedos son pegajosos y muy duros cuando se encuentran secos, tienen malas propiedades físicas, pero son los más fértiles (Tacuarembó, 2015).
- **Limo:** Suelos con granos finos, formados por materiales heredados de los mismos (Cando, 2011).
- **Suelos francos:** Presenta un equilibrio entre arena, limo y arcilla, siendo suelos equilibrados entre sus propiedades físicas y fertilidad (Tacuarembó, 2015).

Tabla 1

Clasificación de las partículas del suelo.

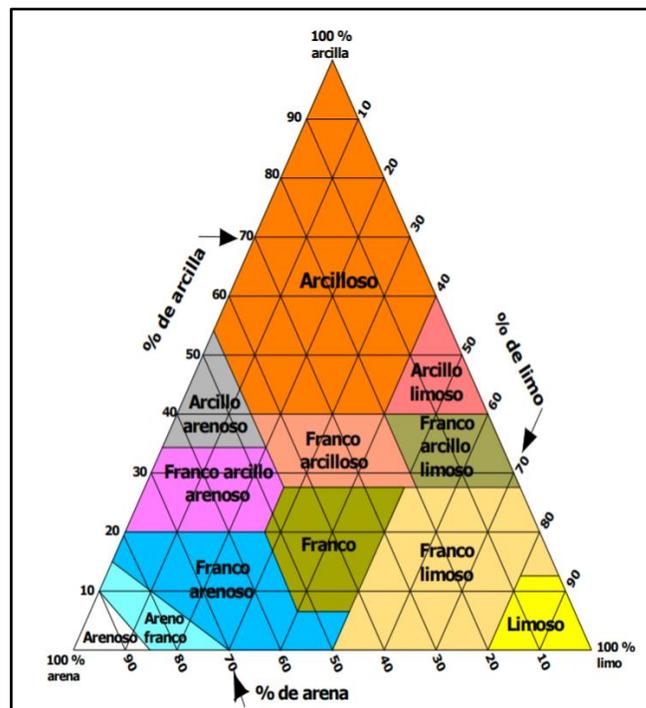
	Tipos de partículas	Tamaño de partícula en mm
Arena	Arena muy gruesa	1 - 2
	Arena gruesa	0.5 - 1
	Arena media	0.25 - 0.5
	Arena fina	0.1 - 0.25
	Arena muy fina	0.1 - 0.05
	Limo	0.05 - 0.002
	Arcilla	<0.002
	Gravas y gravillas	0.2

Nota. Tabla en escala americana de la clasificación de partículas en el suelo (Los autores, 2021).

Existen dos diferentes escalas para la clasificación de texturas: americana e internacional, en donde la última es la más utilizada (Fig. 2) (Ciancaglini, s.f.).

Figura 2

Triángulo textural del suelo.



Nota. Triángulo para la determinación de la textura del suelo, escala americana(Ciancaglini, s.f.).

En la (Fig. 2) las líneas marcadas en el triángulo van a indicar los límites porcentuales de cada componente es decir arcilla, limo y arena (Ciancaglini, s.f.).

2.1.2.1.2. Estructura.

Se conoce como estructura a la manera en la que se ordenan y unen las partículas del suelo, es decir las arcillas, el limo y las arenas, formando de esta manera agregados o unidades estructurales, en donde su estabilidad va a depender del estado y cantidad en el que se hallan los coloides del suelo (Cando, 2011).

Cada tipo de unión de partícula da como resultado un sistema poroso con respecto a estabilidad, tamaño, forma, cantidad, permanencia, y continuidad de los poros, indicando la permeabilidad del perfil, así como la velocidad de infiltración del agua en el suelo, la misma que puede afectarse por la actividad microbiana, prácticas agrícolas y cambio climático (Cando, 2011).

2.1.2.2. Químicas.

La presencia e interacción de partículas de arena, limo y arcilla, así como la materia orgánica, dan como resultado el intercambio de nutrientes y su vez la absorción por las plantas (Velazques, 2003).

2.1.2.2.1. pH del Suelo.

El pH expresa el nivel de acidez de la solución de un suelo, mas no la acidez total del mismo. A causa de la influencia que tiene el pH sobre la fauna y el desarrollo de las plantas hace que afecte a la calidad y velocidad de los procesos de mineralización, humificación y el estado de determinados nutrientes (Pereira et al., 2011).

En base a Soil Survey Staff, (1965) la acidez de un suelo se clasifica como se presenta a continuación:

Tabla 2

Clasificación de acidez del suelo.

PH DE SOLUCIÓN DEL SUELO	CATEGORÍA
menor de 4	Suelo extremadamente ácidos
4.5 – 5.0	Suelos muy fuertemente ácidos
5.1 – 5.5	Suelos fuertemente ácidos
5.6 – 6.0	Suelos medianamente ácidos
6.1 – 6.5	Suelos ligeramente ácidos
6.6 – 7.3	Suelos neutros
7.4 – 7.8	Suelos medianamente básicos
7.9 – 8.4	Suelos moderadamente básicos
8.5 – 9.0	Suelos fuertemente básicos
mayor 9.1	Suelos muy fuertemente básicos

Nota. Se presenta los valores de pH de suelo según su categoría. (Pereira et al., 2011).

En la mayor parte de los suelos su valor del pH oscila entre 4 y 8, con un pH inferior a 4 generalmente poseen (H₂SO₄) y casi todos los suelos con un pH superior a 8 contienen un excedente de sales o a su vez un alto porcentaje de Na⁺. Entre los factores que afectan la variabilidad del pH se encuentra, el factor biótico, el complejo adsorbente y las precipitaciones (Cando, 2011).

2.1.2.3. Biológicas.

Las propiedades biológicas contribuyen en la retención de la humedad, formación de los agregados estructurales, incorporan nitrógeno atmosférico al suelo, a esto destacan las bacterias del género *Rhizobium*, las mismas que retienen la humedad y controlan el ritmo de movimiento del agua (Velazques, 2003).

2.1.3. Microbiología del Suelo.

Se enfoca en la relación de los microorganismos con el ambiente en el que habitan, se conoce que en el suelo superficial de 0 a 20 cm es el lugar en donde se presenta la gran mayoría de procesos microbianos que van a influir en la nutrición de los cultivos (Aquiahuatl, 2017). La actividad biológica de los microorganismos va a depender de varias propiedades del suelo, entre ellas se encuentran la estructura, permeabilidad y volumen de poros (Cruz y Lincango, 2021). Se puede

afirmar que los microorganismos son los verdaderos responsables de descomponer los restos orgánicos y a su vez transformarlos en compuestos inorgánicos, siendo estos los responsables de reunir o reciclar el carbono en la naturaleza. Constituyen aproximadamente el 85% de la fracción viva del suelo, llegando a encontrarse poblaciones de miles por gr de suelo (Aquiahuatl, 2017).

2.1.3.1. Distribución de Microorganismos en el Suelo.

Aquiahuatl, (2017) manifiesta que los microorganismos se van a encontrar distribuidos según la disponibilidad de alimento y sus condiciones ambientales, por ejemplo, a menor profundidad se van a encontrar organismos con un metabolismo aeróbico y a mayor profundidad se va a encontrar microorganismos tolerantes a la falta de oxígeno llamados anaerobios que a su vez van a degradar compuestos provenientes de las actividades de los microorganismos más superficiales.

2.1.3.2. Factores que inciden en el número de bacterias presentes en el suelo.

Es bien conocido que a las bacterias se las asocia con suelos neutros, a los hongos que predominan en suelos ácidos y a los actinomicetes que se encuentran en suelos alcalinos.

Tabla 3

Influencia del pH en el número de microorganismos.

<i>pH</i>	<i>Bacterias</i>	<i>Actinomicetes</i>	<i>Hongos</i>
3.8	16.000	22.000	36.000
4.4	127.000	75.000	59.000
6.4	1.650.000	245.000	74.500
7.6	2.230.000	1.700.000	245.000
7.8	18.209	2.230.250	125.000

Nota. Factores que inciden en la presencia y distribución de microorganismos. (Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2014).

El efecto rizosférico es producido por las condiciones creadas por las raíces que ayudan a la reserva de alimentos para los microorganismos creando condiciones ambientales adecuadas, ya

que se conoce que el número de bacterias crece exponencialmente si estas están cerca de las raíces de plantas (Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2014).

Tabla 4

Influencia de la proximidad de las raíces en el número de microorganismos.

DESCRIPCIÓN	BACTERIAS
Suelo de 15 cm	14.2
Suelo de 0-15 cm	25.4
Suelo junto a raíces	122.0
Material superficial de la raíz	1315.6

Nota. Factores que inciden en la presencia y distribución de microorganismos. (Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2014).

2.2.El Petróleo.

El petróleo es un recurso natural no renovable, proviene de dos términos latinos (petra + óleum) lo que significa aceite de piedra, es un líquido viscoso en el que coexisten partes sólidas, líquidas y gaseosas que a su vez están formados de carbono e hidrógeno en cantidades variables y por otra parte más pequeña de azufre, nitrógeno, oxígeno y algunos metales (Escobar y Reol, 2002). Se lo puede encontrar de manera natural en depósitos de roca sedimentaria en las profundidades de la tierra en el mar (Quiroa, 2019).

Su origen es orgánico, formado a partir de ciertos factores, tales como: ausencia de aire, restos de animales y plantas (especialmente plancton marino), altas temperaturas y acción bacteriana (Asociacion Española de Operadores de Productos Petroliferos, 2002).

3.2.3. Composición del Crudo.

La composición del crudo varía dependiendo del tipo de yacimiento del que provenga, se considera que contiene entre 11 a 13 % de hidrógeno y entre 83 a 86 % de carbono (Instituto Latinoamericano de la Comunidad Educativa , 2021).

Además del C e H en la composición del crudo también se encuentran derivados de S , pequeñas cantidades de N, o de metales como el cromo, níquel, vanadio, hierro y cobalto (Instituto Latinoamericano de la Comunidad Educativa , 2021).

2.3.Hidrocarburos Totales de Petróleo (TPH).

Término que se atribuye para referirse a un grupo de sustancias químicas derivadas del petróleo crudo, en donde casi todos sus componentes están conformados de carbono e hidrógeno conociéndolos como hidrocarburos.

2.3.1. Metodologías para Determinar TPH en el Suelo.

Los métodos para determinar el TPH en el suelo están basados en la gravimetría, espectroscopia infrarroja y cromatografía, previamente a su cuantificación analítica por los métodos mencionados, existe una etapa previa llamada extracción en donde se separa el contenido de TPH de la matriz en donde se encuentra (suelo) (Pindado et al., 2014).

2.3.1.1.Extracción.

Existen varias técnicas de extracción de hidrocarburos en donde las más utilizadas son la extracción por reflujo o llamada Soxhlet la que consiste en extraer hidrocarburos presentes en el suelo usando un solvente orgánico y la técnica de agitación- centrifugación (Fernández, et al., 2006).

2.3.1.2.Cuantificación.

Una vez concluida la extracción de la muestra de suelo, se puede realizar la cuantificación por distintos métodos, entre ellos el gravimétrico que consiste en la evaporación del solvente utilizado y pesando el resultado del mismo; el método por espectroscopia de infrarrojo (IR) se basa en la medición de la vibración que ocurre cuando la molécula absorbe calor (energía) en el infrarrojo del espectro electromagnético; por último se tiene al método por cromatografía de gases que consiste en la separación de la muestra dentro de los componentes individuales cuando viaja a través de una columna (Fernández et al., 2006).

2.4.Contaminación del suelo por hidrocarburos.

Durante los últimos años los hidrocarburos han producido la liberación de contaminantes en el medio ambiente, se sabe que en las operaciones de explotación, extracción, transporte y almacenamiento los recursos utilizados contaminan el medio circundante por medio de filtraciones accidentales o deliberadas (Velásquez, 2017).

2.4.1. Consecuencias de la presencia de hidrocarburos en el suelo.

Un suelo se encuentra contaminado cuando sus características físicas, químicas y biológicas han sido alteradas por actividades antropogénicas representando un riesgo para la salud humana y el medio ambiente (Cando, 2011).

Las principales consecuencias van a depender del volumen y tipo de hidrocarburo, así como de las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo, sin dejar de lado los factores ambientales como es la temperatura, humedad y factores climatológicos. Se mencionan los efectos más comunes que sufre el suelo: alteraciones en la población microbiana, contaminación de aguas superficiales y subterráneas a través de la escorrentía y lixiviados respectivamente, alteraciones por envenenamiento en la cadena alimenticia, impide el intercambio gaseoso con la atmósfera,

disminución del rendimiento de los cultivos, retraso o impedimento del crecimiento de la vegetación en la zona contaminada, entre otros (Cando, 2011).

2.5. Legislación ambiental (Protocolos).

La presente investigación toma en consideración a la Constitución de la Republica del Ecuador, al Texto Unificado de Legislación Secundaria de Medio Ambiente (TULSMA), y el Acuerdo Ministerial 100 – A que expide al Reglamento Ambiental de Actividades Hidrocarburíferas (RAHOE).

2.5.1. Constitución de la Republica del Ecuador

Aprobada el 20 de octubre del 2008, en donde se menciona lo siguiente:

TITULO II, capítulo segundo “Derechos del buen vivir” sección segunda Ambiente sano, se menciona al siguiente articulo (MATE, 2018):

Art.14.- El Estado reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano, ecológicamente equilibrado que garantice la sostenibilidad y el buen vivir (Sumak Kawsay).

TÍTULO VII, capítulo segundo “Biodiversidad y recursos naturales” sección primera Naturaleza y ambiente, se mencionan los siguientes artículos:

Art. 395.- La Constitución reconoce como uno de los principios ambientales a la garantía de un modelo sustentable de desarrollo, ambientalmente equilibrado que conserve la biodiversidad y la capacidad de regeneración natural de los ecosistemas.

Art. 396.- El Estado adoptará políticas y medidas protectoras eficaces para evitar impactos ambientales negativos.

Art. 397.-El Estado en caso de daños ambientales actuará de manera inmediata para garantizar la salud y restauración de los ecosistemas.

Sección quinta, Suelo.

Art. 409.- Es prioridad nacional y de interés público la conservación del suelo, en especial su capa fértil (MATE, 2018).

2.5.2. Texto Unificado de Legislación Secundaria del Medio Ambiente (TULSMA).

El TULSMA en su LIBRO VI “calidad ambiental” en donde en el ANEXO 2 se menciona la norma de calidad ambiental del suelo, prevención de la contaminación, criterios de calidad (tabla 5), criterios de remediación (tabla 6), muestreos y métodos analíticos del suelo (TULSMA, 2015).

Tabla 5

Criterios de calidad del suelo.

CRITERIOS DE CALIDAD DEL SUELO		
Parámetro	Unidades (Concentración en peso seco de suelo)	Valor
Conductividad	uS/m	200
PH	-	6 a 8
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	<150

Nota. La tabla muestra los criterios de calidad de suelo. (TULSMA, 2015).

Tabla 6

Criterios de remediación.

CRITERIOS DE REMEDIACIÓN (VALORES MÁXIMOS PERMISIBLES)					
Parámetro	Unidades	Uso del suelo			
		Residencial	Comercial	Industrial	Agrícola
Conductividad	uS/m	200	400	400	200
pH	-	6 a 8	6 a 8	6 a 8	6 a 8
Hidrocarburos totales (TPH)	mg/kg	230	620	620	150

Nota. La tabla muestra los criterios de remediación según el uso de suelo. (TULSMA, 2015).

2.5.3. Acuerdo Ministerial 100-A que expide al Reglamento ambiental de actividades hidrocarburíferas (RAHOE).

AM 100-A (2020) en sus diferentes capítulos hacen referencia a las distintas fases de la actividad hidrocarburíferas, monitores, estudios y controles de cada una de ellas, en el capítulo XII menciona los límites permisibles, en donde en sus anexos 1,2,3 se presentan los parámetros, valores máximos referenciales para el monitoreo y control ambiental, en el capítulo XIV sanciones y denuncias, en donde los sujetos de control están sometidos a multas dependiendo de la gravedad de la falta (RAHOE, 2010).

Tabla 7

Límites permisibles para la remediación e identificación de suelos contaminados por hidrocarburos.

<i>Parámetro</i>		<i>Expresado</i>	<i>Unidad</i>	<i>Uso Agrícola</i>	<i>Uso Industrial</i>	<i>Ecosistemas Sensibles</i>
Hidrocarburos petróleo	totales de	TPH	mg/Kg	<2.500	< 4.000	< 1.000
Hidrocarburos Policíclicos	Aromáticos	HAPs	mg/Kg	< 2	< 5	<1

Nota. Tabla 7 del anexo 2 Decreto Ejecutivo N° 1215, (RAHOE, 2010).

2.6.Degradación natural.

La degradación natural no requiere de obras de ingeniería sino más bien se da como su palabra lo dice de manera natural ya que los ecosistemas edáficos de todo el planeta poseen proporciones de cepas de microorganismos que son capaces de responder a problemas de contaminación, pero con el inconveniente que los tiempos de degradación son demasiados largos (Cando, 2011).

Se conoce que los principales organismos degradadores de los hidrocarburos son bacterias, hongos y levaduras, al momento de producirse un derrame por hidrocarburos las fracciones más volátiles se van a evaporan con mayor rapidez, quedando los componentes aromáticos y alifáticos

que tengan cadenas más largas, estos son atacados por los microorganismos nativos del suelo, oxidando parte del crudo hasta convertirlo en dióxido de carbono (CO₂) (Cando, 2011).

2.7. Microorganismos degradadores de hidrocarburos.

Los organismos conocidos como hidrocarburos clásicos son bacterias capaces de degradar petróleo, existe de 0.13 % a 50 % de organismos que metabolizan dichos contaminantes en suelos.

En lugares no contaminados, los microorganismos conocidos como degradadores de hidrocarburos forman parte del <0.1 % de toda la comunidad microbiana, en cambio en áreas contaminadas con hidrocarburos constituyen porcentajes más altos de microorganismos, los mismos que poseen características nutricionales relacionadas al contaminante, siendo resistentes a varias formas de estrés ambiental (Cando, 2011).

2.8. Fitorremediación.

2.8.1. Definición.

La fitorremediación es una de las técnicas en las que se utiliza plantas, además de su microbiota asociada para retener, remover o reducir contaminantes presentes en el ambiente, esto sucede mediante varios mecanismos que involucran a diferentes partes de una planta (Ismael y Navas, 2016) cuyo objetivo según Harvey et al. (2002) es asimilar degradar, metabolizar o detoxificar compuestos orgánicos, metales pesados y radioactivos por medio de una interacción entre las plantas y microorganismos, contando con la capacidad para retener, absorber, degradar o transformar sustancias contaminantes a formas menos tóxicas (Yanez y Barcenás, 2012).

2.8.2. Inicio y desarrollo de la fitorremediación.

En el siglo XVIII Antonie Lavoisier, Joseph Priestley y Karl Scheele demostraron que la presencia de las plantas es capaz de descontaminar la atmósfera, sin embargo, en los años 70

se demostró que ciertas especies vegetales sirven para limpiar aguas y suelos contaminados, de esta manera en los años 80 surgió el concepto de fitorremediación (Gomez, 2015).

2.8.3. Perspectivas para el futuro de la fitorremediación.

Actualmente se analizan varias alternativas de modelos y herramientas sostenibles para hacer frente a diferentes situaciones de contaminación implementando la tecnología de fitorremediación (Bernal et al., 2007).

La fitorremediación en el futuro se debe potenciar su implementación mediante investigaciones que consigan resolver sus limitaciones, para convertir en una tecnología viable en los diferentes sectores y niveles de desarrollo. La clave para el éxito de la fitorremediación es que se multipliquen los trabajos científicos y de ingeniería que proporcione información necesaria de esta tecnología y su evaluación de manera eficaz (Delgadillo et al., 2011).

2.8.4. Características de la fitorremediación.

La fitorremediación es una tecnología muy efectiva y siendo hasta diez veces más económica en comparación con otros métodos físicos o químicos, que ayudan a la remoción de contaminantes peligrosos de un suelo (Muñoz et al., 2010).

Según otros autores las características de la fitorremediación:

La fitorremediación ha sido estudiada para restaurar suelos contaminados por crudos del petróleo y pesticidas en diversos tipos de suelo, las especies que han demostrado gran efectividad son: gramínea, leguminosas, ciperáceas, arboles maderables o frutales, como: cedro americano, garbanzo, naranja agria, cocotero, toco o manzana de playa, caoba, entre otras (López et al., 2013).

La fitorremediación se basa en el uso de plantas superiores y de microorganismos que viven en las zonas radicales de las plantas en donde el óptimo desarrollo de su actividad microbiológica adopta una intensa relación entre la microflora en la raíz de las plantas. Esta tecnología se asocia

con enmiendas y prácticas agronómicas del suelo, con el objetivo de eliminar, contener o reducir la toxicidad de los contaminantes presentes en el ambiente (Schnoor et al., 1995).

2.8.5. Ventajas de la fitorremediación.

Según los autores (Delgadillo, et al., 2011), las principales ventajas de la fitorremediación son:

- Esta tecnología se puede realizar *in situ* como *ex situ*.
- Esta tecnología es sustentable.
- Es eficaz para contaminantes orgánicos como inorgánicos.
- Es de bajo costo.
- Para su manejo no requiere personal especializado.
- Para su funcionamiento no requiere consumo de energía.
- Mejora las propiedades fisicoquímicas por la formación de una cubierta vegetal.
- Esta tecnología se puede aplicar en agua, suelo, aire y sedimentos (Delgadillo et al., 2011).

2.8.6. Desventajas de la fitorremediación.

Según Bernal Figueroa (2014), las limitaciones o desventajas de la fitorremediación son:

- Es un proceso relativamente lento cuando las especies s son de vida prolongada, como árboles o arbustos.
- Para su implementación debe ser acorde a las estaciones del año.
- El crecimiento de la especie puede llegar hacer limitada debido a la toxicidad ambiental.
- El contaminante pueden acumularse en maderas, si estas son utilizadas en la combustión, puede emitir gases a la atmosfera.
- No todas las especies vegetales son tolerantes o acumuladoras.
- Para su implementación se requieren áreas grandes.

- El suelo puede estar sujeto a la erosión durante las fases iniciales de crecimiento de la planta.

2.8.7. Plantas más utilizadas en fitorremediación.

Balderas y Sánchez (2015) manifiesta que las especies que más se usan en la fitorremediación son las gramíneas. Algunos estudios que se han realizado sobre fitorremediación como un método biotecnológico para recuperar lugares contaminados por hidrocarburos presentes en suelos y aguas, mencionan que las especies más utilizadas son: *Zea mays L*, *Panicum maximum jacq*, *Paspalum xirgatum*, *Echinochloa polystachya H B K*, *Sorghum vulgare L*, *Phaseolus vulgaris L*, *Phaseolus coccineus L*, *Chamaecrista nictitens*, *Hordeum vulgare*, entre otras.

Según SARMA (2011), las especies vegetales con mayor potencial en la fitorremediación se estiman alrededor de 750. Algunas de las características que deben reunir las especies que son consideradas fitorremediadora son las siguientes:

- Alta tolerancia a salinidad con un pH alto.
- Resistencia a la sequía e inundación.
- Raíces profundas.
- Adaptación y tolerancia al contaminante o al sitio contaminado.
- Alta concentración del contaminante en sus tejidos cosechables.

2.8.8. Mecanismos de la fitorremediación.

Thangavel y Subharam (2004), menciona que dependiendo del tipo de contaminante a tratar, se deben considerar las condiciones del sitio y el nivel de limpieza se pueden utilizar los siguientes mecanismos de fitorremediación:

Fitoextracción: también conocida como fitoacumulación, en este mecanismo consiste en la absorción de contaminantes mediante las raíces de las plantas acumulándose en tallo y hojas (Delgadillo et al., 2011).

Rizofiltración: Según Núñez et al.,(2004), en este mecanismo se busca hacer crecer en cultivos hidropónicos, es decir cultivo sin suelo, raíces con una alta tasa de crecimiento y área superficial para que estas absorben el contaminante.

Fitoestimulación o rizodegradación: En este mecanismo los microorganismos son estimulados para su crecimiento mediante las raíces de las plantas, permitiendo degradar contaminantes orgánicos. Las plantas mediante actividades metabólicas y fisiológicas, liberan nutrientes, enzimas, oxígeno, azúcares simples, compuestos alifáticos, aromáticos y aminoácidos, que son transportados desde sus partes superiores hasta sus raíces, ayudando al desarrollo de comunidades microbianas (Núñez et al., 2004).

Fitoestabilización: Según los autores (Barton et al., 2011, Mendez y Maier, 2008), la fitoestabilización permite que los contaminantes se inmovilicen en el suelo a través de la absorción y acumulación que se produce en las raíces de la planta, evitando su migración a las aguas subterráneas o al aire. Padmavathiamma y Li, (2007), menciona que la fitoestabilización es más efectiva en suelos de textura fina con alto contenido de materia orgánica aplicándolos en terrenos extensos de contaminación superficial.

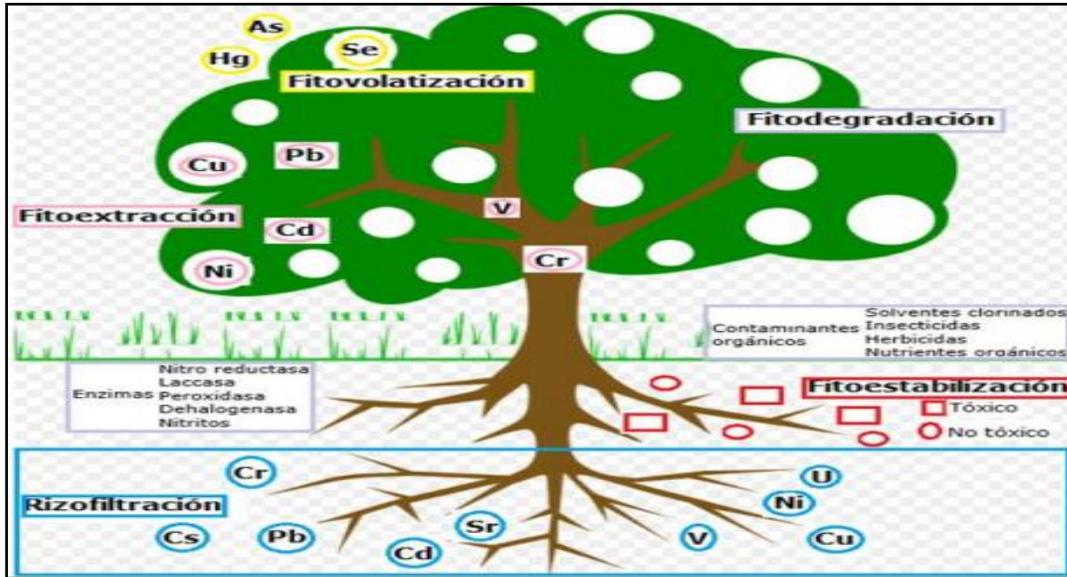
Fitovolatilización: En este mecanismo de fitovolatilización se produce a medida que los árboles y otras plantas van creciendo las mismas que absorben más agua junto con contaminantes orgánicos e inorgánicos, luego se evaporan en las hojas hacia la atmósfera (Prasad y Freitas, 2003).

Fitodegradación: Singh y Jain, (2003), afirman que en la fitodegradación las especies vegetales y los microorganismos asociados a ellas degradan los contaminantes orgánicos en productos

inofensivos, para mineralizarlos hasta formar CO₂ y H₂O. Siendo estos contaminantes metabolizados dentro de los tejidos vegetales produciendo enzimas como la dehalogenasa y la oxigenasa que son producidas por las plantas ayudando a acelerar el proceso de degradación.

Figura 3

Mecanismos de Fitorremediación.



Nota. La figura indica donde se produce cada mecanismo de fitorremediación en la planta. (Montenegro et al., 2009)

2.8.9. Interacción Planta-Microorganismo.

Los microorganismos en sistemas agrícolas se relacionan con una serie de factores bióticos, abióticos, composición biológica del suelo y características físicas y químicas del mismo, influyendo en la interacción de estos organismos y a su vez beneficiando al desarrollo de las especies vegetales (Marschner y Timonen, 2005; Harman, 2006; Radjacommare et al., 2010).

La interacción que existe entre los microorganismos rizosféricos, como los hongos del género *Trichoderma* y las bacterias del género *Pseudomonas* son clasificados como agentes de control biológico y los microorganismos generadores del crecimiento vegetal, estas interacciones

entre los microorganismos son complejas y pueden presentar efectos sinérgicos que incrementan o disminuyen los beneficios para la planta (Cano, 2011).

Según Velásquez, (2017), es complicado predecir el resultado de las interacciones que existen entre las plantas y microorganismos benéficos del suelo y aún mas difícil entre las especies de microorganismos.

2.8.10. Fases de la fitorremediación en una especie vegetal fitorremediadora.

Una especie vegetal fitorremediadora de contaminantes orgánicos cumple con las siguientes fases:

- Metabolismo de los contaminantes al exterior y al interior de la planta (rizósfera).
- Degradación de los contaminantes (mineralización).
- La absorción de los contaminantes (Reichenauer y Germida, 2008).

Las especies vegetales metabolizan los compuestos orgánicos en tres pasos secuenciales:

Fase I. En esta fase se produce la reducción, oxidación, e hidrólisis de los compuestos orgánicos lipofílicos (Komives y Gullner, 2005).

Fase II. Se produce la conjugación de los metabolitos de la fase I a una molécula hidrofílica endógena como los aminoácidos y azúcares (Dietz y Schnoor, 2001).

Fase III. Dentro de esta fase se produce la compartimentalización de los compuestos orgánicos modificados en las vacuolas, también se puede producir la formación de enlaces en la pared celular como la hemicelulosa y la lignina (Cherian y Oliveira, 2005).

Según Navarro y López (2007), los mecanismos de tolerancia son diferentes en cada especie vegetal.

2.8.11. Fitorremediación de contaminantes orgánicos

En los contaminantes orgánicos, el objetivo de la fitorremediación es la mineralización de las sustancias hasta llegar a formar componentes no tóxicos (Saad et al., 2009).

Existen dos mecanismos por los que las plantas incrementan su resistencia frente a los contaminantes orgánicos. El primero se produce en la transformación de los elementos tóxicos en la rizósfera, liberando más del 20% de su fotosintato dentro del suelo, el mismo que está compuesto por una mezcla de alcoholes, fenoles, ácidos orgánicos, proteínas y azúcares que son consumidos por las comunidades microbianas existentes. Las poblaciones microbianas pueden llegar de 100 a 10000 veces mayores que las poblaciones presentes en la matriz del suelo, estas se caracterizan por presentar enzimas específicas que metabolizan los contaminantes orgánicos menos tóxicos (López et al., 2013).

El segundo mecanismo se produce cuando los contaminantes han atravesado el sistema radicular, permitiendo que los contaminantes tóxicos sigan una vía de transformación y trasladarse hacia las hojas y brotes para volatilizarse ó sufrir procesos de metabolización

Según (Saad et al., 2009), menciona que las enzimas en la fitorremediación son: peroxidasas, nitroreductasas, dehalogenasas, nitrilasas y fosfatasas.

La eficiencia de la degradación de los contaminantes depende de varios factores, su estructura, concentración y las condiciones ambientales del sitio. Las enzimas como peroxidasas, nitroreductasas, dehalogenasas, nitrilasas y fosfatasas, son liberadas por las plantas y microorganismos que modifican la biodisponibilidad del contaminante, haciendo que su biodegradación sea más fácil y menos tóxica (Mentaberry, 2011).

Según Saad y otros autores (2009), clasifica a los contaminantes de acuerdo a la facilidad de biodegradación:

- Las moléculas simples como hidrocarburos lineales de 1 a 15 carbonos, los fenoles, alcoholes, ácidos, esterés, aminos, y amidas son fácilmente biodegradables.
- Los bifenilos policlorados, pesticidas y los los hidrocarburos aromáticos policíclicos, son contaminantes de difícil biodegradación, las cuales se acumulan en el ambiente convirtiéndose en el objeto principal de la ingeniería de biorremediación.

Lumelli, (2002), afirman que el petróleo en contacto con el suelo daña y mata el follaje y algunos tejidos leñosos expuestos. La adición de nutrientes a suelos contaminados por hidrocarburos puede favorecer al restablecimiento de las plantas y ayudar al aumento de las poblaciones rizosféricas.

2.8.12. Alternativas para la obtención de especies vegetales útiles para fitorremediación de hidrocarburos.

Saad, y otros autores (2009) mencionan que existen dos alternativas para la obtención de especies útiles en fitorremediación:

- Se debe realizar la búsqueda sistemática, seleccionar la planta que cumpla con los requisitos necesarios para fitorremediar suelos contaminados por hidrocarburos, las plantas deben tener la capacidad hiperacumuladoras o de biotransformación de contaminantes orgánicos de lenta degradación, la especie vegetal seleccionada debe cumplir con ciertas características de crecimiento rápido, raíces profundas, poco apetecible para los herbivoros, y que sea de fácil adaptación ambiental en los suelos contaminados.
- Elegir plantas vigorosas y productivas, con características bioquímicas.

Se puede determinar que una especie vegetal tiene características fitorremedidoras, cuando se conozca que mediante estudios previos realizados haya sido utilizada en algún estudio,

especies que sean nativas de la región y de fácil adaptación al contaminante (Interstate Technology Regulatory Council, 2001).

2.9. Descripción de las especies vegetales utilizadas.

2.9.1 *Phaseolus vulgaris*.

En la mayoría de los países de Latinoamérica y el Caribe, a esta especie se le conoce como frijol, la misma que proviene del catalán fesol.

Origen: No existe consenso claro sobre el número de especies que componen el género *Phaseolus*. Su complejidad taxonómica se debe principalmente a la intrincada morfología floral y a la cantidad de nombres publicados en el género (Mercado, 2018).

Según Valladares, (2010), la clasificación taxonómica del fréjol se describe de la siguiente manera:

Tabla 8

Clasificación Taxonómica Phaseolus vulgaris.

Clasificación Taxonómica	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Subfamilia	Faboideae
Tribu	Phaseoleae
Subtribu	Phaseolinae
Género	<i>Phaseolus</i>
Sección	P. sect. Phaseolus
Especie	<i>P. vulgaris</i>
Nombre binomial	<i>Phaseolus vulgaris</i> L
Nombres comunes	fréjol, fríjol, poroto, judía, ejote, alubia, caraota

Nota. Se presenta la clasificación taxonómica de la especie *Phaseolus vulgaris*. (Valladares, 2010)

Descripción Botánica. Ventura et al., (2018) manifiestan que la planta de frijol es anual, herbácea, se cultiva para obtener las semillas y granos, las mismas que contienen un alto grado de proteínas del 22%.

Raíz. Las raíces en las primeras etapas de desarrollo están formadas por la radícula del embrión, la misma que se convierte en la raíz principal. Al pasar los días se observan las raíces secundarias, las cuales se desarrollan en la parte superior o cuello de la raíz principal. En las raíces secundarias se desarrollan las raíces terciarias como también se desarrollan los pelos absorbentes, los cuales se encuentran en todos los puntos de crecimiento de la raíz (Ventura et al., 2018).

Según los autores Ventura, y otros autores (2018), *Phaseolus vulgaris* presenta nódulos en sus raíces distribuidos laterales de la parte superior y media del sistema radical. Estos nudos son colonizados por bacteria del género *Rhizobium*, las mismas que fijan nitrógeno atmosférico, contribuyendo a satisfacer los requerimientos de este elemento en la planta.

Tallo. Se identifica como el eje central de la planta, que está formado por sucesión de nudos y entrenudos, es herbáceo, cilíndrica o levemente angular, según el hábito de crecimiento de la planta puede ser erecto, semiprostrado o prostrado (Cabrera y Reyes, 2018).

Hojas. Estas especies vegetales tiene dos tipos de hojas: simples y compuestas. El primer par de hojas están constituidas por los cotiledones, que tiene sustancias de reserva a la planta durante el proceso de germinación y emergencia. Las primera hojas verdaderas en el segundo par, se desarrollan en el segundo nudo, estas son simples, cortadas y opuestas. En el tercer nudo se desarrollan las hojas compuestas, estas son alternas, de tres folíolos, con un raquis y un peciolo. Tiene una variación en cuanto color, tamaño y pilosidad, esta variación depende de las condiciones ambientales de luz y humedad (Ventura et al., 2018).

Flores. Ventura, et al., (2018), menciona que la flor contiene los órganos sexuales de la planta. En las flores masculinas son llamados estambres, mientras que en las femeninas se denominan pistilos. Según Cabrera y Reyes, (2018), afirma que en el frijol la flor no se abre mientras esta no ha sido polinizada, por tal razón esta especie se clasifica como una planta autógama.

En Ecuador, la producción de fréjol se realiza en un porcentaje (70-80%) en los pequeños y medianos agricultores. Las provincias que más producen el fréjol en la Sierra son: “Carchi (9.5%), Chimborazo (11%), Loja (14%), Azuay (15%), Imbabura (17%), en la Costa: los Ríos (2.6%), Guayas (7.7%): en el Oriente el 2% (Basantes, 2015).

2.9.2. *Zea mays*.

Origen: Esta gramínea tiene su origen en México hace unos 7000 años, se dio como resultado de la mutación de una gramínea silvestre llamada Teosinte (Bravo, 2012).

Según Yanez et al.,(2013), en el Ecuador el cultivo de maíz se desarrolló hace 6500 años, siendo la Península de Santa Elena (Provincia de Santa Elena), en donde empezaron a cultivar esta gramínea.

Tabla 9

Clasificación Taxonómica Zea mays.

Clasificación Taxonómica	
Reino	Vegetal
Subreino	Embriobionta
División	Angiospermae
Clase	Monocotyledoneae
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>Mays</i>
Nombre científico	<i>Zea mays L.</i>

Nota. Se presenta la clasificación taxonómica de la especie *Zea mays* (Cabrerizo, 2012).

Descripción Botánica.

Raíz. El maíz es una planta anual de gran desarrollo vegetativo, de rápido desarrollo, y puede llegar a alcanzar hasta 5 m de altura (lo normal es de 2 a 2,50 m). Las raíces de esta planta son robustas y fasciculadas que además de aportar alimento a la planta sirven de soporte de la planta que se refuerza con la presencia de raíces adventicias (Ortigoza et al., 2019).

Hojas. Sus hojas están constituidas de cuello, vaina y lámina. El cuello es la zona de transición entre la lámina abierta y la vaina envolvente. La vaina es una estructura cilíndrica, que sale de la parte superior del nudo. La lámina es una banda delgada y angosta que mide de largo 10 cm por 1,5 m. de ancho (Ortigoza et al., 2019).

Tallo. Maroto, (1998) menciona que esta especie tiene un tallo simple en forma de caña, siendo su interior macizo, con una longitud que puede llegar hasta los 4 m de altura, esta planta no presenta ramificaciones.

Inflorescencia. En la inflorescencia del maíz esta es una planta monoica, con flores femeninas y flores masculinas separadas, pero en la misma planta. La flor femenina, es la futura mazorca, que se encuentra a media altura de la planta. La flor masculina tiene forma de panícula es de color amarilla y se encuentra ubicada en la parte superior de la planta (Ortigoza et al., 2019).

Grano. El grano contiene proteínas y en su interior se halla el endosperma con el 85-90 % del peso del grano, la capa que envuelve a la mazorca es dura que cubre toda la semilla (Maroto, 1998).

2.9.3. *Sorghum vulgare.*

Origen: Según Perèz, (2010) el origen de este cultivo ha sido discutido a través de los años, planteándose que se ubicó inicialmente en la India, mientras que en América fue introducido en el siglo XVIII.

Tabla 10

Clasificación Taxonómica Sorghum vulgare.

Clasificación Taxonómica	
Reino	Vegetal
División	Trachaeophyta
Subdivisión	Pteropsidae
Clase	Angiospermae
Subclase	Monocotiledoneae
Grupo	Glumiflora
Orden	Graminales
Familia	Gramínea
Subfamilia	Panicoideae
Tribu	Andropogoneae
Género	<i>Sorghum</i>
Especie	<i>vulgare</i>

Nota. Se presenta la clasificación taxonómica de la especie *Sorghum vulgare* (Gutierrez, 2003).

Descripción Botánica.

Raíz. Zeledón, y otros, (2018), menciona que el sistema radical adventicio fibroso se desarrolla de los nudos más bajos del tallo, con una profundidad de 1 a 1.3 metros. Puede llegar a ser el doble que el maíz la cantidad de pelos absorbentes, las raíces pueden crecer de primordios radicales, pero no son efectivas en la absorción de agua y nutrientes.

Tallo. Esta especie tiene un solo tallo de 7 a 24 nudos y son erectos, pero puede desarrollar otros (hijos), su característica principal es la formación de una serie de nudos y entrenudos, con una longitud de 0.5 a 4 m, y de diámetro de 0.5 a 5 cm cerca de la base (Zeledón, y otros, 2018).

Hojas. Gutierrez, (2003), menciona que varía el número de hojas de 7 a 24 según la variedad y el período de crecimiento, son casi horizontales, erectas y se encorvan con la edad, una hoja madura oscila entre 30 a 135 cm y su ancho entre 1.5 a 15 cm (Zeledón, y otros, 2018).

Flores. Es una panícula de racimo, se caracteriza por ser compacta o semicompacta, cada florecilla sésil contiene un ovario, que luego forma la semilla (Gutierrez, 2003). Según Zeledón, y otros, (2018), La panícula puede tener de 2 a 20 cm de ancho, y de 4 a 25 cm de largo, y contener

de 400 a 800 granos cada mazorca, según el tipo de panícula es corta o larga, suelta y abierta, y compacta o semicompacta.

Grano.

(Gutierrez, 2003), menciona que el sorgo tiene de 25000 a 60000 granos por Kg. Estos granos son más pequeños en comparación con el de maíz, siendo el sorgo con más granos, su color depende de la semilla de sorgo puede ser blanco, rojo, amarillo o café.

2.9.4. *Panicum máximum jacq.*

Origen: Esta especie se produce en ambientes tropicales. (Ramírez, y otros, 2009). Es de origen africano, en 1967 se introdujo a América. Las especies del género *Panicum*, tienen un potencial de rendimiento forrajero (Lobo y Diaz, 2001).

Tabla 11

Clasificación Taxonómica Panicum máximum jacq.

Clasificación Taxonómica	
Reino	Vegetal
División	Embriophyta
Clase	Angiospermae
Subclase	Monocotiledónea
Orden	Glumiflorae
Familia	Gramineae
Género	<i>Panicum</i>
Especie	<i>maximum</i>

Nota. Se presenta la clasificación taxonómica de la especie *Panicum máximum jacq.* (Lobo y Diaz, 2001)

Descripción Botánica.

Raíz. Según López (2001), menciona que tiene un sistema radicular abundante, fibroso, profundo, se podría afirmar que esta especie tiene una formación completa cuando la planta asemille por primera vez, es tolerante a la sequía, pero no por temporadas secas largas.

Espiga. La inflorescencia de esta especie es una panícula abierta de 25 centímetros de ancho por 15 a 20 cm de longitud, produce abundante semilla que se va madurando de forma heterogénea y se desgranar rápidamente por el viento (López, 2001).

Semilla. López,(2001) menciona que la espiguilla o espícula tiene glumas externas lisas e internamente encierran a la cariósida el primer par de glumas, formando una estructura que cierra herméticamente. Su semilla es fértil, de forma elíptica, de aproximadamente dos milímetros de longitud.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Diseño experimental.

Con el fin de encontrar el mejor tratamiento que reduzca los TPH del suelo evaluando su tolerancia y capacidad de fitorremediación, se probó el efecto de cuatro especies vegetales en cuatro distintas concentraciones de TPH, incluido del blanco (0, 1000, 5000 y 10000 ppm).

Tabla 12

Diseño experimental.

DATOS	DETALLE
Diseño	Factorial 4x4
Concentraciones	4
Tratamientos	16
Repeticiones	3

Fuente (Los autores,2021).

3.2. Tratamientos del Ensayo.

A continuación, se explica los distintos tratamientos aplicados en el trabajo experimental.

Tabla 13

Tratamientos aplicados.

Concentraciones de TPH (ppm)	Especies vegetales			
	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Zea mays</i>	<i>Sorghum vulgare</i>	<i>Panicum máximum jacq</i>
0	T 1	T 2	T 3	T 4
1000	T 5	T 6	T 7	T 8
5000	T 9	T 10	T 11	T 12
10000	T 13	T 14	T 15	T 16

Nota. Tabla representativa de los tratamientos aplicados en el trabajo experimental (Los autores,2021).

Tabla 14*Descripción de cada tratamiento.*

Tratamientos	Descripción
<i>T 1</i>	Concentración 0 ppm con <i>Zea mays</i> .
<i>T 2</i>	Concentración 0 ppm con <i>Phaseolus vulgaris</i> .
<i>T 3</i>	Concentración 0 ppm con <i>Sorghum vulgare</i> .
<i>T 4</i>	Concentración 0 ppm con <i>Panicum máximum jacq.</i>
<i>T 5</i>	Concentración 1000 ppm con <i>Zea mays</i> .
<i>T 6</i>	Concentración 1000 ppm con <i>Phaseolus vulgaris</i> .
<i>T 7</i>	Concentración 1000 ppm con <i>Sorghum vulgare</i> .
<i>T 8</i>	Concentración 1000 ppm con <i>Panicum máximum jacq.</i>
<i>T 9</i>	Concentración 5000 ppm con <i>Zea mays</i> .
<i>T 10</i>	Concentración 5000 ppm con <i>Phaseolus vulgaris</i> .
<i>T 11</i>	Concentración 5000 ppm con <i>Sorghum vulgare</i> .
<i>T 12</i>	Concentración 5000 ppm con <i>Panicum máximum jacq.</i>
<i>T 13</i>	Concentración 10000 ppm con <i>Zea mays</i> .
<i>T 14</i>	Concentración 10000 ppm con <i>Phaseolus vulgaris</i> .
<i>T 15</i>	Concentración 10000 ppm con <i>Sorghum vulgare</i> .
<i>T 16</i>	Concentración 10000 ppm con <i>Panicum máximum jacq.</i>

Nota. Descripción detallada de los diferentes tratamientos aplicados (Los autores,2021).

3.3.Análisis estadístico.

Se utilizó el Software estadístico R versión 4.1.0 (R studio) en el cual se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un arreglo factorial 4x4, además de incluir una prueba Tukey al 5% con la finalidad de evaluar eficazmente los distintos tratamientos.

3.4.Población y muestra.

Durante el ensayo experimental se trabajó con una población total de 576 plantas distribuidas en las 4 concentraciones (Fig.4).

Se realizaron 16 tratamientos descritos anteriormente (tabla.14) los mismos que tienen 3 repeticiones, dando un total de 48 muestras.

3.5.Nomenclatura utilizada.

En la figura 4 se aprecia la nomenclatura que se aplicó a los diferentes tratamientos y a cada especie vegetal para su respectiva identificación. Cabe mencionar que existió una población de 576 plantas, tomando en cuenta las 3 repeticiones, concentraciones y especies.

Figura 4

Nomenclatura aplicada.

CONCENTRACIÓN 0 PPM												CONCENTRACIÓN 1000 PPM											
T 1			T 2			T 3			T 4			T 5			T 6			T 7			T 8		
M (Maiz)			F (Frejol)			S (Sorgo)			P (Pasto alemán)			M (Maiz)			F (Frejol)			S (Sorgo)			P (Pasto alemán)		
Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3
M 1	M 13	M 25	F 1	F 13	F 25	S 1	S 13	S 25	P 1	P 13	P 25	M 100	M 112	M 124	F 100	F 112	F 124	S 100	S 112	S 124	P 100	P 112	P 124
M 2	M 14	M 26	F 2	F 14	F 26	S 2	S 14	S 26	P 2	P 14	P 26	M 101	M 113	M 125	F 101	F 113	F 125	S 101	S 113	S 125	P 101	P 113	P 125
M 3	M 15	M 27	F 3	F 15	F 27	S 3	S 15	S 27	P 3	P 15	P 27	M 102	M 114	M 126	F 102	F 114	F 126	S 102	S 114	S 126	P 102	P 114	P 126
M 4	M 16	M 28	F 4	F 16	F 28	S 4	S 16	S 28	P 4	P 16	P 28	M 103	M 115	M 127	F 103	F 115	F 127	S 103	S 115	S 127	P 103	P 115	P 127
M 5	M 17	M 29	F 5	F 17	F 29	S 5	S 17	S 29	P 5	P 17	P 29	M 104	M 116	M 128	F 104	F 116	F 128	S 104	S 116	S 128	P 104	P 116	P 128
M 6	M 18	M 30	F 6	F 18	F 30	S 6	S 18	S 30	P 6	P 18	P 30	M 105	M 117	M 129	F 105	F 117	F 129	S 105	S 117	S 129	P 105	P 117	P 129
M 7	M 19	M 31	F 7	F 19	F 31	S 7	S 19	S 31	P 7	P 19	P 31	M 106	M 118	M 130	F 106	F 118	F 130	S 106	S 118	S 130	P 106	P 118	P 130
M 8	M 20	M 32	F 8	F 20	F 32	S 8	S 20	S 32	P 8	P 20	P 32	M 107	M 119	M 131	F 107	F 119	F 131	S 107	S 119	S 131	P 107	P 119	P 131
M 9	M 21	M 33	F 9	F 21	F 33	S 9	S 21	S 33	P 9	P 21	P 33	M 108	M 120	M 132	F 108	F 120	F 132	S 108	S 120	S 132	P 108	P 120	P 132
M 10	M 22	M 34	F 10	F 22	F 34	S 10	S 22	S 34	P 10	P 22	P 34	M 109	M 121	M 133	F 109	F 121	F 133	S 109	S 121	S 133	P 109	P 121	P 133
M 11	M 23	M 35	F 11	F 23	F 35	S 11	S 23	S 35	P 11	P 23	P 35	M 110	M 122	M 134	F 110	F 122	F 134	S 110	S 122	S 134	P 110	P 122	P 134
M 12	M 24	M 36	F 12	F 24	F 36	S 12	S 24	S 36	P 12	P 24	P 36	M 111	M 123	M 135	F 111	F 123	F 135	S 111	S 123	S 135	P 111	P 123	P 135
CONCENTRACIÓN 5000 PPM												CONCENTRACIÓN 10000 PPM											
T 9			T 10			T 11			T 12			T 13			T 14			T 15			T 16		
M (Maiz)			F (Frejol)			S (Sorgo)			P (Pasto alemán)			M (Maiz)			F (Frejol)			S (Sorgo)			P (Pasto alemán)		
Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3
M 500	M 512	M 524	F 500	F 512	F 524	S 500	S 512	S 524	P 500	P 512	P 524	M 1000	M 1012	M 1024	F 1000	F 1012	F 1024	S 1000	S 1012	S 1024	P 1000	P 1012	P 1024
M 501	M 513	M 525	F 501	F 513	F 525	S 501	S 513	S 525	P 501	P 513	P 525	M 1001	M 1013	M 1025	F 1001	F 1013	F 1025	S 1001	S 1013	S 1025	P 1001	P 1013	P 1025
M 502	M 514	M 526	F 502	F 514	F 526	S 502	S 514	S 526	P 502	P 514	P 526	M 1002	M 1014	M 1026	F 1002	F 1014	F 1026	S 1002	S 1014	S 1026	P 1002	P 1014	P 1026
M 503	M 515	M 527	F 503	F 515	F 527	S 503	S 515	S 527	P 503	P 515	P 527	M 1003	M 1015	M 1027	F 1003	F 1015	F 1027	S 1003	S 1015	S 1027	P 1003	P 1015	P 1027
M 504	M 516	M 528	F 504	F 516	F 528	S 504	S 516	S 528	P 504	P 516	P 528	M 1004	M 1016	M 1028	F 1004	F 1016	F 1028	S 1004	S 1016	S 1028	P 1004	P 1016	P 1028
M 505	M 517	M 529	F 505	F 517	F 529	S 505	S 517	S 529	P 505	P 517	P 529	M 1005	M 1017	M 1029	F 1005	F 1017	F 1029	S 1005	S 1017	S 1029	P 1005	P 1017	P 1029
M 506	M 518	M 530	F 506	F 518	F 530	S 506	S 518	S 530	P 506	P 518	P 530	M 1006	M 1018	M 1030	F 1006	F 1018	F 1030	S 1006	S 1018	S 1030	P 1006	P 1018	P 1030
M 507	M 519	M 531	F 507	F 519	F 531	S 507	S 519	S 531	P 507	P 519	P 531	M 1007	M 1019	M 1031	F 1007	F 1019	F 1031	S 1007	S 1019	S 1031	P 1007	P 1019	P 1031
M 508	M 520	M 532	F 508	F 520	F 532	S 508	S 520	S 532	P 508	P 520	P 532	M 1008	M 1020	M 1032	F 1008	F 1020	F 1032	S 1008	S 1020	S 1032	P 1008	P 1020	P 1032
M 509	M 521	M 533	F 509	F 521	F 533	S 509	S 521	S 533	P 509	P 521	P 533	M 1009	M 1021	M 1033	F 1009	F 1021	F 1033	S 1009	S 1021	S 1033	P 1009	P 1021	P 1033
M 510	M 522	M 534	F 510	F 522	F 534	S 510	S 522	S 534	P 510	P 522	P 534	M 1010	M 1022	M 1034	F 1010	F 1022	F 1034	S 1010	S 1022	S 1034	P 1010	P 1022	P 1034
M 511	M 523	M 535	F 511	F 523	F 535	S 511	S 523	S 535	P 511	P 523	P 535	M 1011	M 1023	M 1035	F 1011	F 1023	F 1035	S 1011	S 1023	S 1035	P 1011	P 1023	P 1035

	0 ppm (testigo)
	1000 ppm
	5000 ppm
	10000ppm
	Zea mays
	Phaseolus vulgaris
	Sorghum vulgare
	Panicum máximum jacq
	Repetición 1
	Repetición 2
	Repetición 3

Nota. Nomenclatura utilizada en el ensayo experimental (Los autores, 2021).

3.6. Variables.

- Concentración de hidrocarburos totales de petróleo (mg/kg).
- Número de hojas en buen estado.
- Número de hojas en mal estado.
- Altura de la planta.
- Cantidad de frutos.
- Cantidad de flores.
- Diámetro del tallo de la planta.
- Biomasa radicular.
- Biomasa aérea.

3.7. Recogida de datos

La recolección de datos de cada variable se realizó de la siguiente manera:

1. Concentración de hidrocarburos totales de petróleo (mg/Kg).

Esta variable se midió en laboratorios aplicando el método 3540C SOXHLET para su extracción y para su cuantificación el método gravimétrico.

2. Número de hojas en buen estado.

Para esta variable se procedió al conteo de todas las hojas sanas (buen estado) que tiene cada planta en cada tratamiento.

3. Número de hojas en mal estado.

En esta variable se contó todas las hojas que se encontraban en mal estado, ya sea que fueron afectadas por plagas o se secaron, esto se realizó a cada planta en cada tratamiento.

4. Número total de hojas.

La variable se evaluó sumando el número de hojas sanas y número de hojas en mal estado de cada planta en cada tratamiento.

5. Altura de la planta.

La altura de la planta se midió en centímetros utilizando un flexómetro, la medición se realizó desde la parte baja del tallo hasta la hoja bandera, de esta manera se conoció el tamaño total de cada planta en cada tratamiento.

6. Cantidad de frutos.

La evaluación de esta variable se realizó mediante el conteo de los frutos en proceso de formación o ya formados.

7. Cantidad de flores.

La evaluación de esta variable se realizó mediante el conteo de las flores en proceso de crecimiento o ya formadas.

8. Diámetro del tallo de la planta.

Se evaluó midiendo el tallo en el primer entrenudo del mismo con la ayuda de un calibrador de Vernier (Nonio).

9. Biomasa radicular.

Para la medición de la biomasa radicular se empleó el método directo o destructivo, el cual consiste en cortar la planta y determinar la biomasa pesando directamente el componente “raíz“ el mismo que va desde el cuello (separación entre raíz y tallo) hasta la cofia (parte final de la raíz). Esta variable se expresó en mg/ planta (Ruiz, 2013) (Acosta, 2021).

10. Biomasa aérea.

Para la medición de la biomasa aérea se empleó el método directo o destructivo, el cual consiste en cortar la planta y determinar la biomasa pesando directamente los componentes “tallos, hojas, ramas“ los mismos que van desde la base del tallo hasta la hoja bandera. Esta variable se expresó en g/ planta (Ruiz, 2013).

Las variables descritas anteriormente se las observó cada 15 días durante cuatro meses, es decir existió un total de ocho mediciones a lo largo del proyecto experimental, las mismas que fueron analizadas en campo y en laboratorio.

3.8.Protocolo.

3.8.1. Fase de Campo.

3.8.1.1.Área de estudio.

El presente trabajo experimental se realizó en la provincia de Sucumbíos, cantón Cuyabeno sector San José, en donde se utilizó cuatro especies vegetales para fitorremediar un suelo contaminado por hidrocarburos a diferentes concentraciones.

3.8.1.2.Georreferenciación.

Se geo-referenció el lugar donde se realizó el experimento, en el cual se tomó las siguientes coordenadas:

Tabla 15

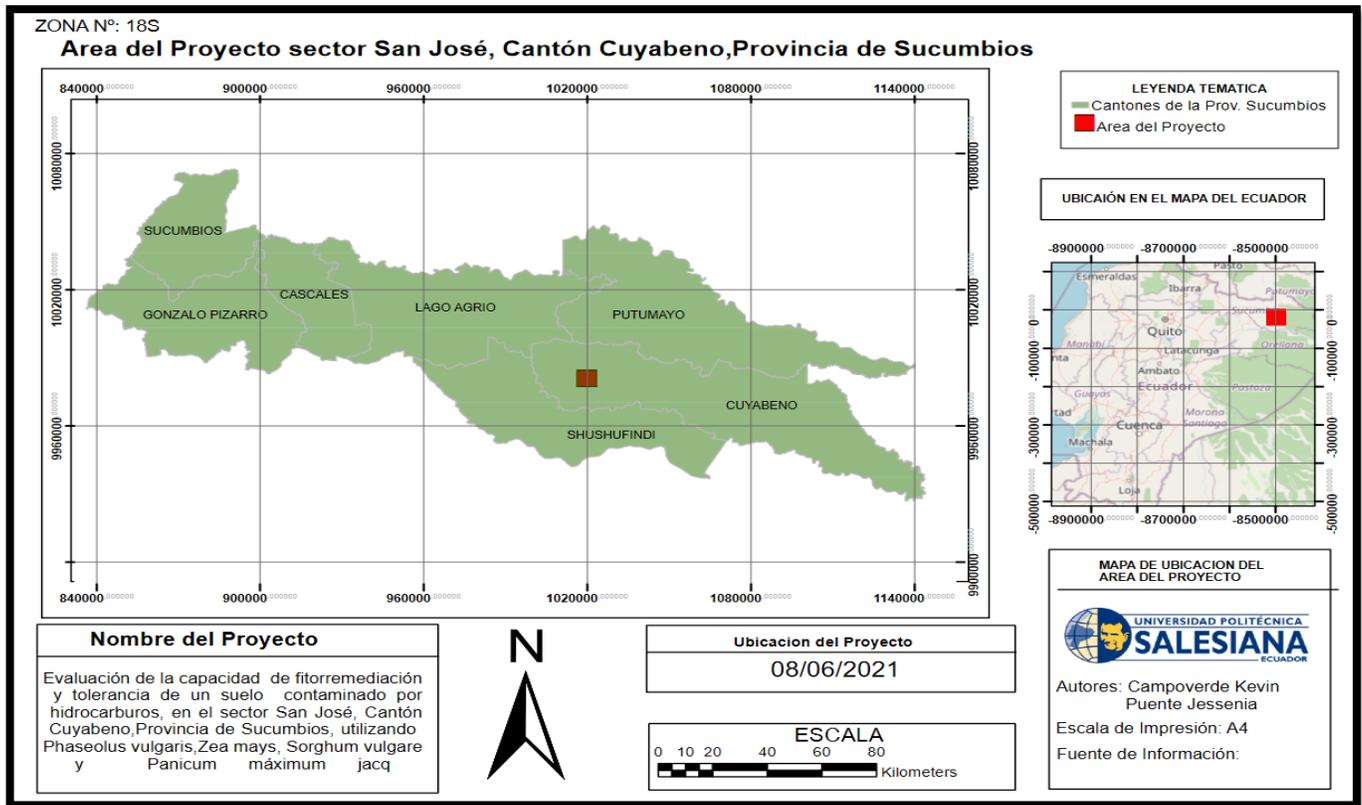
Coordenadas del experimento

<i>Puntos</i>	<i>X</i>	<i>Y</i>
<i>1</i>	351493.609	9981205.52
<i>2</i>	351489.578	9981227.46
<i>3</i>	351483.502	9981217.77
<i>4</i>	351477.213	9981214.57
<i>5</i>	351477.046	9981215.17
<i>6</i>	351480.964	9981211.29
<i>7</i>	351488.856	9981214.39

Nota. Toma de puntos en coordenadas UTM. (Los autores,2021).

Figura 5

Mapa de ubicación del área de estudio



Nota. Ubicación del área de estudio en el que se realizó el proyecto (Los autores,2021).

3.8.1.3. Obtención del Hidrocarburo.

El hidrocarburo se adquirió por la Empresa Petrolera Andes Petroleum Ecuador Ltd. ubicada en la provincia de Sucumbios, Cantón Cuyabeno, la cantidad obtenida fue de 20 litros.

3.8.1.4. Muestreo de la Flora del Área de Estudio.

El muestreo de flora se realizó a través del método de cuadrantes, el mismo que consiste en colocar un cuadrado sobre la vegetación para medir la cobertura, densidad y frecuencia de las especies vegetales. El tamaño del cuadrante va a depender de la facilidad y velocidad del muestreo que se requiera.

A continuación se muestra la distribución del área en donde se realizó el método de cuadrantes:

Figura 6

Distribución del área para el método de cuadrantes.



Nota. Se presenta graficamente el área utilizada en el proyecto experimental (Los autores, 2021).

Como se observa en la fig 6 el área total se la dividió en ocho cuadrantes, de los cuales se procedió al reconocimiento de las especies vegetales de los mismos, para la identificación se requirió el acompañamiento de un habitante del lugar.

Tabla 16*Especies vegetales encontradas en el área del proyecto.*

Nombre científico	Nombre común	Abundancia
<i>Alibertia edulis</i>	canilla de venado	46
<i>Coffea</i>	café	6
<i>Cynodon dactylon</i>	grama	239
<i>Urtica dioica</i>	ortiga (chine)	19
<i>Fridericia floribunda</i>	bejuco morado	22
<i>Psidium guineense</i>	guayabilla	16
-	oreja de perro	28
<i>Bidens pilosa</i>	cadillo	8
<i>Allium sphaerocephalon</i>	ajo de monte	1
<i>Psidium guajava</i>	guayaba	2
-	cabezón	30
<i>Parthenium hysterophorus</i>	hierba voladora	5
TOTAL		422

Nota. Se enlista las especies vegetales y la abundancia de las mismas, después de aplicar el método por cuadrantes (Los autores, 2021).

3.8.1.5. Preparación del Terreno.

Para la preparación del terreno se empleó el método de labranza tradicional o convencional que consiste en la utilización de maquinaria ya sea manual o mecánica para remover o invertir el suelo (Vallejos, 2012), por lo tanto, se realizó el siguiente procedimiento:

1. Se estableció el espacio a utilizar acorde a las distancias requeridas por cada especie vegetal, tomando en cuenta los bordes de parcela.
2. Se retiró totalmente la maleza del lugar.
3. Se procedió a remover la tierra para su mezcla y aireación.
4. Se adicionó el hidrocarburo de acuerdo con las concentraciones establecidas.
5. Se realizó el emparejamiento del suelo, acondicionándolo para la siembra.

6. Se establecieron los bordes de parcela para cada cultivo empleando láminas de madera.

3.8.1.6. Adición del Hidrocarburo.

Para determinar la cantidad de crudo que se utilizó en los distintos tratamientos se basó en la concentración que se quería obtener, es decir para los tratamientos de 1000 ppm, 5000 ppm y 10000 ppm, estos se los transformó a mg/kg y se procedió a realizar una regla de tres como se observa a continuación (Cruz y Lincango, 2021).

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ mg/kg}$$

$$\frac{1000 \text{ mg (crudo)}}{1 \text{ kg de suelo}} = \frac{x}{997.9032 \text{ kg de suelo}} \quad \text{por lo tanto}$$

$$x = \frac{1000 \text{ mg (crudo)} * 997.9032 \text{ kg de suelo}}{1 \text{ kg de suelo}} = 997903.2 \text{ mg de crudo}$$

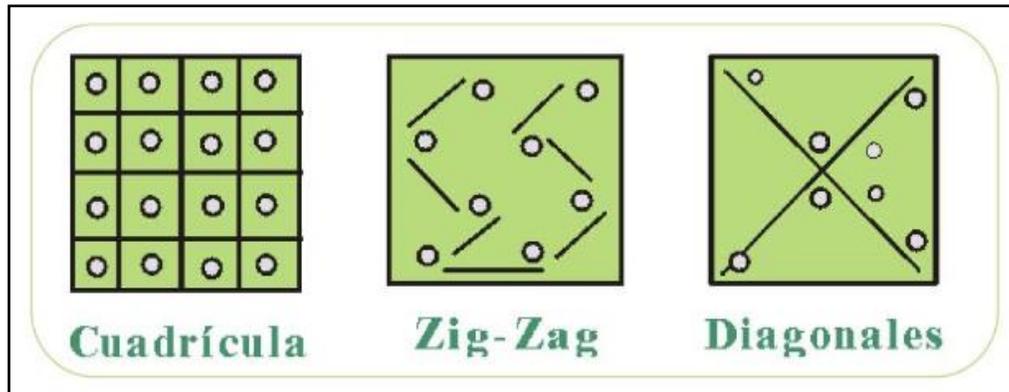
Para la preparación de las distintas concentraciones (1000 C_1 , 5000 C_2 y 10000 C_3 ppm) se colocó en el suelo 997.9 (C_1), 4989.5 (C_2) y 9979 (C_3) gramos de crudo respectivamente, después de distribuir el crudo uniformemente se procedió a mezclarlo hasta su homogeneidad.

3.8.1.7. Recolección de Muestras del Suelo

Se empleó el método de muestreo simple, que consiste en una sola extracción del suelo con un peso de 1 kg, esto se lo realizó de manera sistemática en forma de cuadrícula (Fig 7) (Domingo, 2012).

Figura 7

Muestreos sistemáticos



Nota. Método de muestreo sistemático, realizado a distancias uniformes (Domingo, 2012).

Se empleó los siguientes materiales: guantes, pala, espátula, fundas ziploc, marcador y recipientes herméticos. A continuación se detalla el procedimiento:

1. Se eliminó la cobertura vegetal.
2. Se estableció el surco que va hacer muestreado y en este se realizó un hoyo en forma de V.
3. La pala se introdujo hasta 20 cm de profundidad.
4. Al sacar la pala se eliminó el material colectado en los bordes de la misma, dejando así solo el centro de la muestra evitando posibles contaminaciones.
5. Se introdujo la muestra a la funda ziploc y se la sella.
6. Se codificó cada muestra (número de muestra, ubicación del muestreo, fecha y hora del muestreo).
7. Se las guardó en el recipiente hermético para su posterior análisis.

3.8.1.8. Siembra.

Se realizó el método de siembra manual, el cual consiste en colocar la semilla con la mano haciendo surcos con una profundidad y distancia que van a depender de la especie vegetal que se va a cultivar.

✓ *Phaseolus vulgaris.*

Se colocó 2 semillas a una profundidad de 5 cm, con una distancia de 20 cm entre planta (Martinez et al., 2009).

✓ *Zea mays.*

Se colocó 2 semillas en surcos a una profundidad de 7 cm, con una distancia de 25 cm entre planta (Vergara et al., 2011).

✓ *Sorghum vulgare .*

En el suelo húmedo se colocó las semillas de sorgo a una profundidad de 5 cm y con una distancia de siembra de 25 cm (Alvarado, 2014).

✓ *Panicum máximum jacq.*

Se colocó la semilla a una profundidad de 2 cm y con una distancia de 20 cm entre plantas.

3.8.1.9. Requerimientos nutricionales para cada especie vegetal.

Para la fertilización de las 4 especies vegetales se utilizó el método de aspersión en bomba de mochila.

✓ *Phaseolus vulgaris.*

Se aplicó 30 g de fertilizante de fórmula 10-30-10 a los 10 días de la siembra y 30 g de urea al 46% (46-0-0) a los 25 días de germinación (Martinez et al., 2009).

✓ *Zea mays.*

Se siguió la fórmula 16-20-0, recomendada por (Deras, 2020) para suelos francos, franco-arcillosos o arcillosos. Se fertilizó a los 8 días después de la siembra colocando 110 g de fertilizante y a los 30 días 90 g del mismo, esto se realizó para cada parcela de maíz.

✓ *Sorghum vulgare.*

Según (Alvarado, 2014) señala que es recomendable seguir la fórmula 10-30-10, por lo cual se fertilizó los cultivos de la misma forma, evitando el contacto directo con la semilla, para esto se utilizó 61 g de urea, 85 g de nitrato de amonio y 130 g de sulfato de amonio para cada parcela de sorgo. Se fertilizó a los 22 días después de la siembra.

✓ *Panicum maximum jacq.*

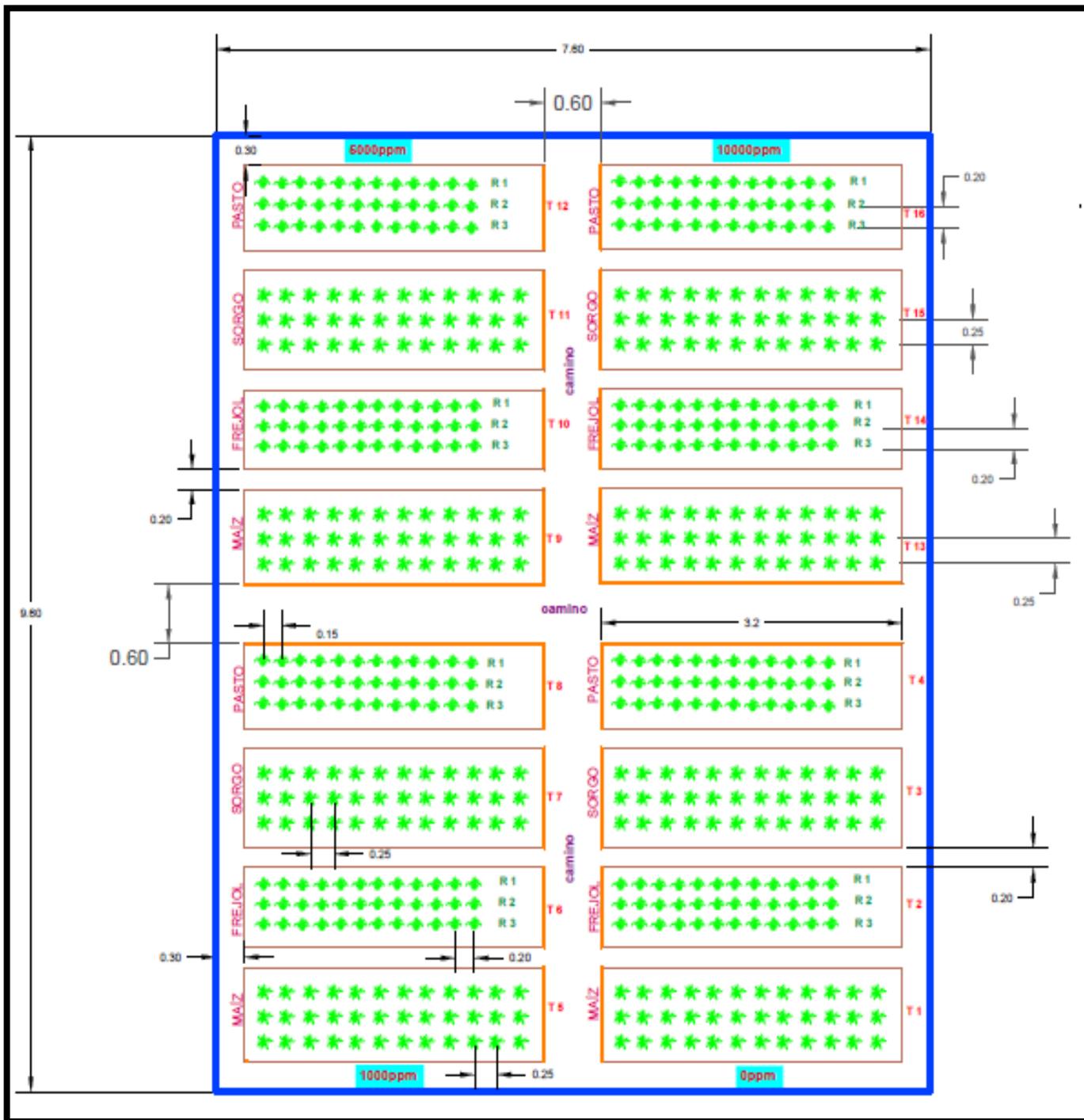
Este tipo de pasto tiene alta afinidad a la fertilización nitrogenada por lo que se utilizó la fórmula 46-0-0. Se colocó 1.16 kg de urea 46% en cada parcela de este cultivo (Cerdas y Vallejos, 2011).

3.8.1.10. Distribución del tratamiento.

En la fig. 8 se observa cómo se dispuso los distintos tratamientos y la distribución del área utilizada en el proyecto experimental.

Figura 8

Distribución del área utilizada en el proyecto experimental para los cultivos de Phaseolus vulgaris, Zea mays, Sorghum vulgare y Panicum máximum jacq, en el sector San José provincia de Sucumbíos.



Nota. Representación esquemática del área utilizada en el proyecto experimental (Los autores, 2021).

3.8.2. Fase de laboratorio.

3.8.2.1. Análisis fisicoquímico del suelo.

A continuación, se presenta el procedimiento de los parámetros aplicados para la evaluación de los análisis fisicoquímicos del suelo.

3.8.2.1.1. pH.

El pH se refiere a la concentración de iones hidrógeno activos (H^+), que se da por la interacción de los componentes sólidos y líquido en la interfase líquida del suelo (Fernández, y otros, 2006).

Según los autores Fernández, y otros, (2006). Mencionan que puede existir interferencia en los suelos con alta cantidad de materia orgánica, pueden llegar a formar una gruesa pasta seca, por lo que una relación menor de muestra en agua puede ser aceptable (1:5 o 1:10).

Procedimiento.

Para conocer el pH del suelo se utilizó el método del potenciométrico líquido. En una balanza analítica con la ayuda de una espátula se pesó 5 g de suelo, en un vaso de precipitación de 50 ml, se añade 10 ml de agua destilada, y se sometió a agitación durante 30 minutos en un agitador magnético. Posterior se procede a dejar reposar 10 minutos y con un potenciómetro previamente calibrado en soluciones tampón de pH 10, 7 y 4 (Fernández, y otros, 2006).

Calibración del pH-metro: se sumergió el electrodo en una disolución tampón de pH 4, agitando moderadamente hasta que se estabilice la lectura, después se saca el electrodo y se lava con agua destilada con la ayuda de una piseta, secándolo con papel absorbente, repitiendo estos procesos en la disolución tampón pH 10 y la disolución de pH 7 (Llorca y Bautista, 2004).

Tabla 17

Criterios de evaluación de pH respecto a un suelo.

CATEGORÍA	VALOR DE PH
Fuertemente ácido	< 5.0
Moderadamente ácido	5.1 -6.5
Neutro	6.6 -7.3
Medianamente alcalino	7-4 - 8.5
Fuertemente alcalino	8.5

*Nota.*Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados (Fernández, y otros, 2006).

3.8.2.1.2 Textura.

Según los autores, Fernández, et al. (2006), mencionan que las proporciones relativas por tamaño de partículas de limo, arena y arcilla forman la textura del suelo que al combinarse permiten categorizar al suelo en una de las 12 clases texturales. La textura está determinada sólo por el material mineral, aquí no se considera el material orgánico (Vivas y Rivera, 2005).

Procedimiento.

Para conocer la textura del suelo se utilizó el método de densímetro de Bouyoucos, para lo cual se pesan 40 gramos de suelos, se añade 100 ml de la solución de hexametáfosfato sódico, se vacía los 40 gramos de suelo a la trituradora ayudándonos de agua destilada por un tiempo de 5 minutos, se transfiere a la probeta de 1000 ml y se afora con agua destilada, posterior se agita la muestra con la ayuda de una varilla metálica y se inserta con cuidado el densímetro, se considera el tiempo 0 al momento que se saca la varilla agitadora, se toman las medidas en los tiempo 3 min, 5 min, 10 min, 30 min, 90 min y en un tiempo >8 horas.

Luego, para establecer el tamaño de partículas, la textura y tipo de suelo se utilizó el diagrama textural de la USDA donde se encuentra representado por el triángulo textural (USDA, 1999).

3.8.2.1.3. Conductividad eléctrica.

Según Barbaro et al., (2014). La conductividad eléctrica es la capacidad de un material para conducir la corriente eléctrica, mientras más fácil se mueve la corriente a través del mismo el valor de este es más alto. Esto significa que, a mayor conductividad eléctrica, mayor es la concentración de sales.

Procedimiento.

Se pesa 5 g de suelo seco al aire en un recipiente, se agrega 100 ml de agua, luego se agita vigorosamente la mezcla durante 10 min, seguidamente se introduce los electrodos de conductividad eléctrica hasta que se estabilice en un tiempo aproximado de 1 min o menos.

3.8.2.1.4. Humedad.

El agua es esencial en el suelo, por su participación metabólicas celulares, es portador de nutrientes y actúa como solvente, ionizando los macro y micronutrientes que las plantas toman del suelo y permite que la materia orgánica se biodegrade (Fernández, y otros, 2006).

Procedimiento.

Para determinar la humedad del suelo se utilizó el método gravimétrico (Fernández, y otros, 2006) también denominado método de secado en horno según la INEN 690 1982-05.

Con una muestra de suelo usando una balanza analítica, se pesa 10 g de muestra, esto depende del tamaño de la cápsula, utilizando una cápsula de porcelana a peso constante, luego se coloca dentro de una estufa utilizando una pinza a una temperatura de 105 °C durante 24 horas. (Llorca & Bautista, 2004). Una vez transcurrido este tiempo se saca la cápsula de la estufa con la

pinza teniendo mucho cuidado al manipular, para luego dejar enfriar en un desecador por 30 minutos, posteriormente se pesó la cápsula con la muestra seca y se vuelve a colocar la cápsula en la estufa a la misma temperatura (105 °C), pero durante 2 horas, se dejó enfriar en un desecador por 30 min y se pesa nuevamente y registre el peso final.

Aplicando la fórmula para el cálculo del porcentaje de humedad en el suelo por la diferencia de pesos:

Ecuación 1 Humedad

$$\text{Contenido de agua (\%)} = 100 \times \frac{(m1-m2)}{m1}$$

Donde:

- m1: Peso inicial en (g).
- m2: Peso final (g).

3.8.2.1.5. Nitrógeno total.

Para determinar la cantidad de nitrógeno en el suelo se utilizó el método de Kjeldahl, este método se recomienda para aquellos estudios en los que se desea conocer la relación C/N de la materia orgánica del suelo.

Para el uso de esta metodología se deben seguir los siguientes pasos:

- a. La muestra de suelo se digiere en ácido sulfúrico concentrado, con la ayuda de un catalizador para transformarlo en nitrógeno orgánico en amoniacal.
- b. Se alcaliniza el medio con hidróxido sódico para liberar el amoniaco formado.
- c. El amoniaco liberado será recogido con vapor de agua, en una solución de ácido bórico.
- d. Se valora el nitrógeno recogido con ácido clorhídrico 0,1 M.

Procedimiento.

- a. Preparación de la muestra.

- Se debe triturar la muestra para luego ser pasada por un tamiz de 0,14 mm.
- Se mezcla el material tamizado.
- Con la ayuda de una balanza se pesa 0,5-1 g de muestra, con una precisión de 0,1 mg en un tubo de digestión de 250 ml.

b. Digestión.

- Se añaden 2 pastillas catalizadoras Kjeldahl.
- Se agrega 12 ml de H₂SO₄.
- Se agita moderadamente hasta humedecer la muestra.
- Colocar el aspirador y luego encenderlo, dejar digerir por un tiempo de 60 minutos.
- En caso de que se genere espuma se agrega 2 gotas de octanol.
- Quitar la gradilla y dejar reposar por 15 minutos.

c. Destilación.

- En 75 ml de agua destilada se deja diluir la digestión enfriada.
- Se añade 25 ml en un matraz a la disolución receptora.
- Para gasificar la digestión se añade 50 ml de NaOH al 40 %.

d. Valoración.

- Se debe realizar un blanco por cada muestra.
- Para su valoración se utiliza el compuesto estandarizado (HCl 0,1 N) (Andrades et al., 2015).

Cálculos

Ecuación 2 Nitrógeno Total

$$N(\%) = \frac{(T - B) * 14,007 * N}{\text{Peso de la muestra en (mg)}} * 100$$

Donde:

- N: Normalidad del valorador.
- T: ml de HCl en la valoración de la muestra.
- B: ml de HCl en la valoración del blanco.

3.8.2.1.6. Fósforo asimilable.

Para el análisis de fósforo asimilable en el suelo, se determinó mediante el método Olsen, en el que consiste en una formación de un precipitado de color amarillo, debido a que la muestra es tratada con molibdato de amonio y esta contiene fósforo. Posteriormente el precipitado es reducido con ácido ascórbico a azul molibdofosfórico, determinando colorimétricamente la concentración de fósforo, es decir, midiendo la intensidad de color de la sustancia, mientras más intenso es el color hay más fosforo, esta relación se produce con la cantidad de sustancia. Finalmente, mediante la absorbancia en el espectrofotómetro se mide la intensidad de color (Marquez, 2014).

3.8.2.1.7. Carbono orgánico total (CO).

Mediante el método de calcinación se utilizó para determinar el carbono orgánico total del suelo. Se debe tenerse presente que con este método se obtienen valores más altos en el contenido de materia orgánica del suelo, ya que aplicando este método se volatizan todas las formas de carbono orgánico lo que se convierte en un método poco preciso de medición (Méndez Valdiviezo, 2016).

Procedimiento.

Con la ayuda de una balanza analítica se pesó una muestra de 7 g de suelo seco al aire, pasado por un tamiz a 2 mm y se coloca en crisoles de porcelana. Luego se seca la muestra y el crisol en horno a 105 °C hasta peso constante, en un tiempo de 24 a 48 horas se retira del horno y con un desecador se enfría para luego pesar. Continuando con el proceso durante 3 o 4 horas se calcina la

muestra en una mufla a 650 o 700 °C. Una vez transcurrido este tiempo se retira de la mufla y se lleva a un desecador para enfriar la muestra y se pesa nuevamente. Se calcula la diferencia de peso entre las medidas antes y después de calcinar, esta diferencia de peso se da por la pérdida de materia orgánica por el proceso de calcinación. Finalmente, la diferencia de peso se expresa en porcentaje (%), con respecto al peso inicial de la muestra (seca a 105 °C).

Aplicando la siguiente formula:

Ecuación 3 % de materia orgánica

$$\% \text{ Materia Orgánica (MO)} = \frac{P1 - P2}{P2 - C} * 100$$

Donde:

- P 1: Peso del suelo antes de la calcinación.
- P 2: Peso del suelo después de la calcinación.
- C: peso del crisol.

Obtenido el % de MO, se realizó el cálculo del % COT basándose en la siguiente fórmula:

Ecuación 4 % de carbono orgánico

$$\% \text{ COT} = \frac{\% \text{MO}}{1.724}$$

Donde:

- %MO = % Materia Orgánica.
- 1.724 = Factor de Van Benmelen.

3.8.2.1.8. Potasio.

Se determinó por el método fotométrico de llama, atomizando la muestra, excitando los átomos de potasio en la flama, a un nivel de energía mayor que al momento de regresar a su estado fundamental, este emite energía en forma de luz de una longitud de onda de 768 nm específica para este análisis. La luz pasa a través de un filtro o un monocromador, seleccionando la longitud de onda de la luz que es emitida por los átomos del potasio. La luz producida pasa por un detector

de tipo fototubo integrado al sistema de lectura, este sistema es en su mayoría digital o analógico. Existe proporcionalidad directa a la concentración de potasio entre la intensidad de luz emitida y la respuesta eléctrica del detector (American Society for testing and Materials, 1994).

3.8.2.2. Análisis microbiológico.

3.8.2.2.1. Siembra de microorganismos.

En la naturaleza, en su totalidad los microorganismos no se encuentran aislados, sino integrados en poblaciones mixtas. Para un estudio de microorganismo y poder conocer sus propiedades, es necesario separar unos de otros y trabajar con especies aisladas, obteniendo cultivos puros o axénicos; un cultivo puros o axénicos es aquel que contiene un sólo tipo de microorganismo en medio sólido una masa de células fácilmente visible a estas se denomina colonia (Microbiología general, 2020).

Procedimiento.

Para la preparación del medio, se debe esterilizar los materiales a utilizarse luego se pesa, se mide los volúmenes necesarios de agua, para luego pasar al proceso de autoclavado. El medio de cultivo se coloca en cajas Petri las mismas que se codifican como se desee el investigador.

Para la siembra y aislamiento de microorganismos se realizó mediante estrías y raspado sobre Agar en cajas Petri las muestras de suelo contaminado con hidrocarburos. La revisión de las cajas Petri se realizó a las 72 horas, para poder observar el crecimiento de las colonias de bacterias. Tanto la preparación como la siembra de microorganismos se realizó en la cámara de flujo laminar.

3.8.2.2.2. Caracterización de microorganismos nativos.

Macroscópica.

Para una mejor observación morfológica se recomienda que los cultivos estén frescos los mismos que estarán crecidos en medios no selectivos, las colonias de una única especie se

desarrollan en medios específicos bajo condiciones idóneas. Para la observación macroscópica se observaron cuidadosamente el tamaño, forma, consistencia y pigmentación de las colonias aisladas (Carbonell, 2019).

Microscópica.

Se utilizó la tinción Gram como primer paso para la identificación bacteriana, a continuación, se detalla el procedimiento:

- En un portaobjetos cerca del fuego se coloca una gota de agua destilada.
- Con un asa se toma una pequeña parte del cultivo y se lo coloca encima del agua destilada, esto se esparce en el portaobjetos hasta que este homogéneo y las bacterias no estén aglomeradas.
- Se pasa el portaobjetos dos a tres veces por el mechero para que se fijen las bacterias en el portaobjetos.
- Se coloca una gota de violeta de metilo y se deja por un minuto, posteriormente se enjuaga con agua destilada.
- Se coloca una gota de Lugol y se deja actuar por 30 segundos y se enjuaga con agua destilada.
- Agregar alcohol cetona durante 30 segundos y se vuelve a enjuagar.
- Se agrega safranina, dejando actuar por un minuto, se enjuaga con agua destilada y se deja secar.
- Se coloca la muestra en el microscopio y se observan los resultados.

(Carbonell, 2019)

3.8.2.2.3. Características bioquímicas.

Catalasa.

Para determinación de la catalasa se utiliza el método de Cowan & Steel's (1993). La catalasa descompone el peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Se debe cubrir una pequeña cantidad de biomasa bacteriana que es depositada en un portaobjetos con 1mL de peróxido de hidrógeno al 3 %. La presencia del enzima se manifiesta por el desprendimiento de burbujas de oxígeno (O₂) de inmediato después de haber añadido el agua oxigenada.

Ureasa.

Para indicar la presencia de actividad hidrolítica de la urea se inocularon tubos de contenido de urea (caldo ureasa). El medio se incubó de 3 a 5 días a una temperatura de 15 °C. Esta enzima se presenta por el viraje a rojo intenso del indicador del medio, provocado por la fuerte alcalinización que produce el amoníaco liberado en la hidrólisis de la urea.

Citrato.

Para este análisis se cultiva el microorganismo en Agar citrato de Simmons. Este medio contiene fosfato de amonio como fuentes de carbono y de nitrógeno respectivamente, citrato de sodio y azul de bromotimol como indicador de pH.

Para dar una lectura se sabe que solo las bacterias capaces de metabolizar el citrato podrán multiplicarse en este medio y liberarán iones amonio, junto con la eliminación de citrato. También generará una fuerte basificación del medio que con un resultado positivo dará un color de verde a azul (Martinez A. , 2007).

Lactosa.

Para la identificación de microorganismo se utilizó el agar McConkey, ya que este medio de cultivo es selectivo a bacterias no entéricas con un indicador de pH (rojo neutro).

En agar McConkey las bacterias Gram positivas (+) aparecerán de color rojo o violeta, y negativas van tomando la coloración amarillenta de las colonias lactosa (-) (Martinez A. , 2007).

3.8.2.2.4. Determinación de unidades formadoras de colonias (UFC).

El recuento microbiano se utiliza para determinar el número de microorganismos en diferentes matrices de análisis al hacerlo permite comprobar la calidad, la seguridad sanitaria, estas técnicas de recuento pueden ser directas e indirectas. Dos técnicas más utilizadas para el recuento en laboratorios de microbiología son:

- Recuento en placa en superficie.
- Recuento en placa invertida.

Ambas técnicas determinan el número de microorganismo viables en una muestra, el número de colonias es directamente proporcional al número de células por esa razón los resultados son reportados como unidades formadoras de colonias (UFC).

Para el conteo en placa invertida se debe seguir los siguientes pasos:

1. Homogenizar la mezcla en el recipiente que la contiene.
2. Para muestras sólidas pesar 10 g en un frasco que pueda contener mínimo 100 ml de volumen y agregar 90 ml de dilución + 10 ml de muestra está siendo la dilución 10^{-1} , agitar vigorosamente por 10 minutos.
3. Definir las diluciones a trabajar para nuestros análisis en laboratorio.
4. Adicionar 1 ml de muestra a la base de una caja Petri estéril, agregar el medio de cultivo fundido a una temperatura de 45 °C y homogenizar y dejar que se solidifique el medio y dejar las cajas invertidas de 24 a 48 horas a 35°C.

5. Conteo de colonias se debe seleccionar las colonias que estén entre 30 y 300 UFC, contar las colonias de cada caja, promediar los valores que se tienen en resultado de muestras duplicado y multiplicar por el inverso de la dilución, indicar el volumen de siembra por resultado.

3.8.2.3. Extracción de TPH de Muestras de Suelo.

El método 3540C SOXHLET EXTRACTION, se aplicó para poder aislar y concentrar los TPH presentes en las muestras de suelo, utilizando como disolvente de extracción al diclorometano.

Los pasos que se realizaron para la extracción de TPH de las muestras de suelo, por el método de SOXHLET EXTRACTION se detallan a continuación:

1. Poner los balones a peso constante por medio de la estufa a una temperatura de 120 °C, por un tiempo de 4 horas, luego dejarlos enfriar en el desecador.
2. Se registra el peso inicial de los balones (Ra).
3. Con la ayuda de la balanza se pesan 10 g de las muestras de suelo, y se colocan dentro de los dedales de celulosa.
4. Se coloca en el extractor de soxhlet el dedal de celulosa con la muestra de suelo.
5. En los balones de 500 ml se coloca aproximadamente 300 ml de diclorometano.
6. Conectar los balones al extractor soxhlet en una heating mantle (manta calefactora) a una temperatura de 69-70 °C, permitiendo la ebullición del disolvente durante 8 horas.
7. Dejar enfriar los balones aproximadamente 10 minutos.

Los pasos para la extracción del disolvente de las muestras de TPH, por el método gravimétrico se detallan a continuación:

4. Pasar los balones al rotaevaporador para la recuperación del disolvente, 740 mbar a temperatura de 45 °C aproximadamente.
5. Cuando la muestra se haya evaporado en su totalidad se retira del rotaevaporador y se deja enfriar por 10 minutos.
6. Se registra el peso final de los balones (Rb).

3.8.2.5. Análisis cuantitativo de los TPH de las muestras.

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, la humedad de la muestra de suelo y finalmente se aplicó la fórmula propuesta por el método “gravimétrico” por Fernández *et al.* (2006).

Ecuación 5 Método gravimétrico.

$$\text{TPH (mg /kg)} = (\text{RB} - \text{RA}) * (\text{FC}) / (\text{P} * \text{FH}).$$

Dónde:

TPH (mg/kg) = hidrocarburos totales del petróleo en mg/kg de suelo seco.

RB = peso en (mg) del recipiente que contiene el extracto orgánico concentrado.

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

FC = factor de transformación. = 1 000.

P = cantidad de suelo extraído en (g).

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

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentará, los resultados y discusión de la investigación.

4.1. Análisis Físicoquímicos.

Los análisis físicoquímicos se realizaron tanto al inicio como al final del trabajo experimental, los mismos que cuentan con resultados de cada tratamiento.

4.1.1. Textura del suelo.

Mediante el método de Bouyoucos y diagrama de textura se determinó al inicio y al final del experimento experimental un suelo franco arcilloso, concordando con el (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2018) dónde menciona que la provincia de Sucumbíos y Pastaza predomina un suelo franco-arcilloso.

Tabla 18

Determinación de textura del suelo.

Especies	Tiempo	Blanco	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Temperatura	Textura			Tipo de suelo
							Arena	Arcilla	Limo	
Maíz	30 s	1	7	7,1	7	20	85,93	10,67	3,40	Franco Arcilloso
	1 min	0	7	7	7	20				
	3 min	1,5	7	7	7	20				
	10 min	1	6	6	6,1	20				
	30 min	1	5	5,5	5,4	20				
	90 min	1	4	4	4,1	20				
	> 8 Horas	0	2	3	3	20				
Frejol	30 s	1	7	7,2	7,1	20	85,80	10,80	3,40	Franco Arcilloso
	1 min	0	7	7,2	7,1	20				
	3 min	1,5	7	7,2	7,1	20				
	10 min	1	6	6	6,1	20				
	30 min	1	5	5,5	5,4	20				
	90 min	1	4	4	4,1	20				
	> 8 Horas	0	2	3,1	3	20				
Sorgo	30 s	1	7	7	7	20	86,00	10,66	3,33	Franco Arcilloso
	1 min	0	7	7,2	7	20				
	3 min	1,5	6,9	7,1	7	20				
	10 min	1	6	6	6,1	20				
	30 min	1	5	5,5	5,4	20				

	90 min	1	4	4	4,1	20									
	> 8	0	2	3	3	20									
	Horas														
	30 s	1	7	7,1	7,1	20	85,87	12,13	2,00	Franco					
	1 min	0	7	7	7,1	20				Arcilloso					
	3 min	1,5	7	6,9	7,1	20									
<i>Pasto</i>	10 min	1	6	6	6,1	20									
	30 min	1	5	5,5	5,4	20									
	90 min	1	4	4	4,1	20									
	> 8	0	2,9	3,2	3	20									
	Horas														

Nota. Se presenta los valores de arena, limo y arcilla que hacen referencia a un suelo franco arcilloso (Los autores,2021).

4.1.1. pH.

Se presenta los valores de pH del inicio y final del estudio de los 16 trataminetos con sus tres repeticiones se aprecian en el anexo 18, se presenta los máximos, mínimos y media obtenidos.

Tabla 19

Máximos, mínimos, media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de pH antes y después del ensayo experimental.

Especie	Concent ppm	pH Antes	Med	Min	Max	Var	Des. Est	Coef. Var	pH después	Med	Min	Max	Var	Desv. Est	Coef. Var
maíz	0	6.11							5.87						
maíz	0	6.14	6.1	6.1	6.2	0.000	0.021	0.003	5.76	5.8	5.8	5.87	0.003	0.055	0.009
maíz	0	6.15							5.82						
Frejol	0	6.27							5.47						
Frejol	0	6.31	6.3	6.3	6.3	0.000	0.021	0.003	5.17	5.3	5.2	5.47	0.023	0.150	0.028
Frejol	0	6.3							5.32						
Sorgo	0	6.23							5.53						
Sorgo	0	6.2	6.2	6.2	6.3	0.001	0.025	0.004	5.61	5.6	5.5	5.61	0.002	0.040	0.007
Sorgo	0	6.25							5.57						
Pasto	0	6.25							6.11						
Pasto	0	6.28	6.3	6.3	6.3	0.000	0.017	0.003	5.62	5.9	5.6	6.11	0.060	0.245	0.042
Pasto	0	6.28							5.87						
maíz	1000	6.14							4.88						
maíz	1000	6.14	6.2	6.1	6.2	0.001	0.023	0.004	5.04	5.0	4.9	5.04	0.006	0.080	0.016
maíz	1000	6.18							4.96						
Frejol	1000	6.09							5.49						
Frejol	1000	6.13	6.1	6.1	6.1	0.001	0.026	0.004	5.44	5.5	5.4	5.49	0.001	0.025	0.005

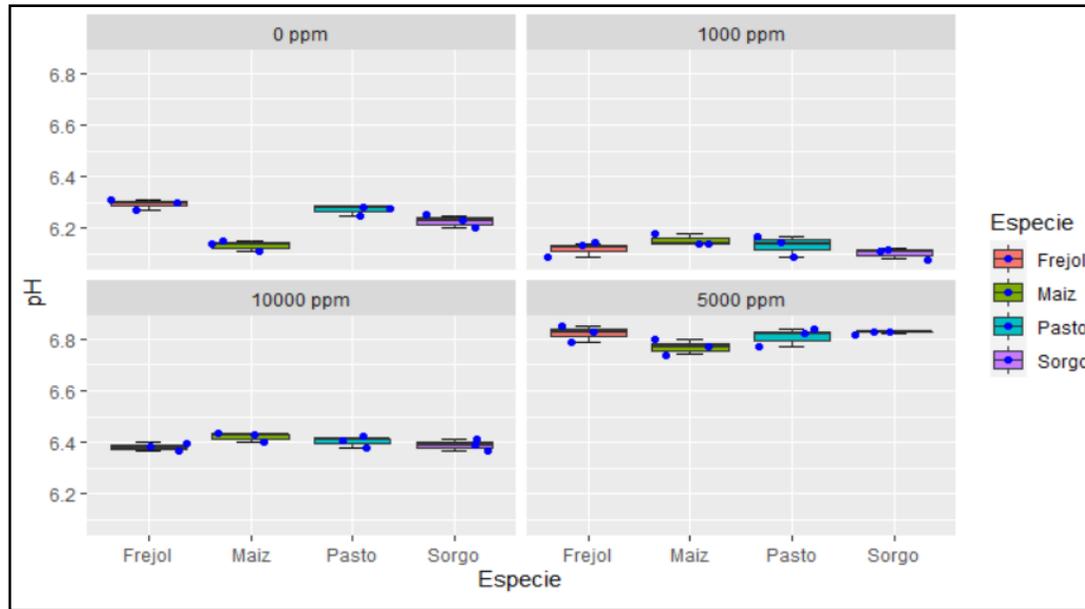
Frejol	1000	6.14							5.47						
Sorgo	1000	6.12							5.9						
Sorgo	1000	6.08	6.1	6.1	6.1	0.000	0.021	0.003	4.98	5.4	5.0	5.9	0.212	0.460	0.085
Sorgo	1000	6.11							5.44						
Pasto	1000	6.14							5.56						
Pasto	1000	6.17	6.1	6.1	6.2	0.002	0.040	0.007	5.43	5.5	5.4	5.56	0.004	0.065	0.012
Pasto	1000	6.09							5.495						
maíz	5000	6.77							5.55						
maíz	5000	6.74	6.8	6.7	6.8	0.001	0.030	0.004	5.41	5.5	5.4	5.55	0.005	0.070	0.013
maíz	5000	6.8							5.48						
Frejol	5000	6.85							5.42						
Frejol	5000	6.83	6.8	6.8	6.9	0.001	0.031	0.004	5.53	5.5	5.4	5.53	0.003	0.055	0.010
Frejol	5000	6.79							5.48						
Sorgo	5000	6.82							5.84						
Sorgo	5000	6.83	6.8	6.8	6.8	0.000	0.006	0.001	5.74	5.8	5.7	5.84	0.002	0.050	0.009
Sorgo	5000	6.83							5.79						
Pasto	5000	6.84							5.99						
Pasto	5000	6.77	6.8	6.8	6.8	0.001	0.036	0.005	5.94	6.0	5.9	5.99	0.001	0.025	0.004
Pasto	5000	6.82							5.97						
maíz	10000	6.43							5.6						
maíz	10000	6.4	6.4	6.4	6.4	0.000	0.017	0.003	5.8	5.7	5.6	5.8	0.010	0.100	0.018
maíz	10000	6.43							5.7						
Frejol	10000	6.37							5.66						
Frejol	10000	6.4	6.4	6.4	6.4	0.000	0.015	0.002	5.66	5.7	5.7	5.66	0.000	0.000	0.000
Frejol	10000	6.38							5.66						
Sorgo	10000	6.41							5.81						
Sorgo	10000	6.39	6.4	6.4	6.4	0.000	0.020	0.003	5.61	5.7	5.6	5.81	0.010	0.100	0.018
Sorgo	10000	6.37							5.71						
Pasto	10000	6.38							6.01						
Pasto	10000	6.41	6.4	6.4	6.4	0.000	0.021	0.003	5.97	6.0	6.0	6.01	0.000	0.020	0.003
Pasto	10000	6.42							5.99						

Nota. Valores máximos, mínimos y media obtenidos de los 16 tratamiento con tres repeticiones respectivamente (Los autores,2021).

Al inicio del experimento el pH max es 6.85 perteneciente a *Phaseolus vulgaris* en una concentracion de 5000ppm y un pH min de 6.08 de *Sorghum vulgare* en 1000 ppm, siendo un suelo neutro y moderadamente neutro. Al termino de la investigación se presentó un pH max de 6.11 de *Panicum máximum* jacq a 0ppm (testigo) y un pH min de 4.88 de *Zea mays* a 1000 ppm, siendo un suelo moderadamente acido y fuertemente acido respectivamente.

Figura 9

pH antes del ensayo experimental.



Nota. Medición de pH antes del experimento (Los autores, 2021).

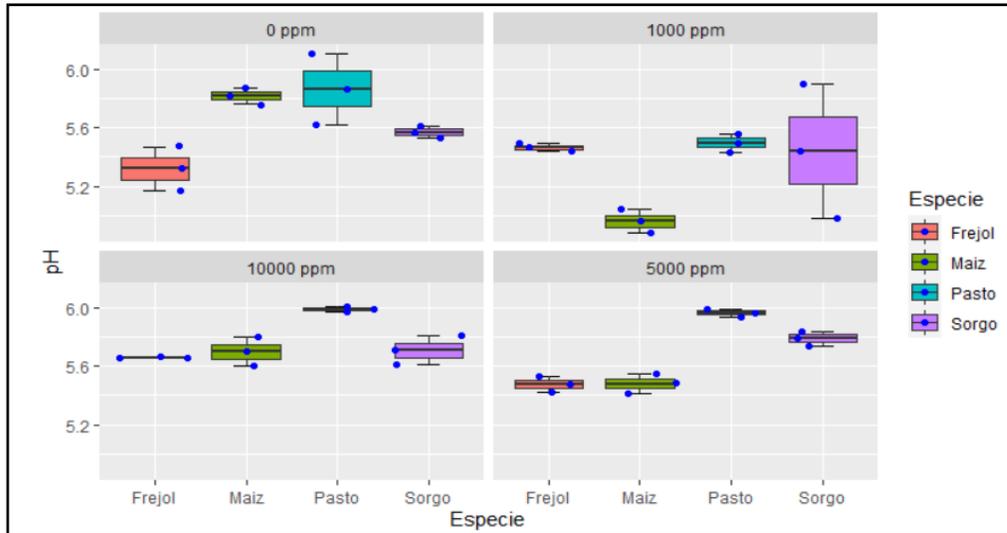
Se observa que todas las especies en las diferentes concentraciones se encuentran en un rango de pH de 6 a 6.85, lo que indica que es un suelo moderadamente ácido a neutro (tabla 17).

Como se aprecia en la concentración 0 ppm (control) tiene un pH de 6.2 a 6.4, coincidiendo con el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria del Ecuador quien manifiesta que en

suelos amazónicos el pH entra en un rango de 5.5 a 6.5 (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, 2018).

Figura 10

pH después del ensayo experimental.



Nota. Medición de pH finalizado el experimento. (Los autores, 2021).

Se observa que todas las especies en las diferentes concentraciones se encuentran en un rango aproximadamente de 5 a 6.1, indicando que es un suelo ácido a moderadamente ácido (tabla 17).

Con estos resultados se puede decir que el pH disminuyó durante todo el ensayo experimental, volviendo al suelo más ácido, en el caso del blanco como menciona (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2008) su descenso se puede atribuir a que luego de una siembra las plantas absorben más cationes que aniones, acidificando más el suelo. Las concentraciones 1000, 5000 y 10000 ppm mantuvieron resultados similares o más bajos a comparación de 0 ppm, su disminución puede ser producto de la liberación de compuestos de largas cadenas y/o ácidos grasos del contaminante (Zamora y Ramos, 2012).

4.1.2. Conductividad Eléctrica (σ)

Los resultados de la conductividad eléctrica del suelo del inicio y final del estudio de los 16 tratamientos con sus tres repeticiones se aprecian en el anexo 19, se presenta los máximos, mínimos y media obtenidos.

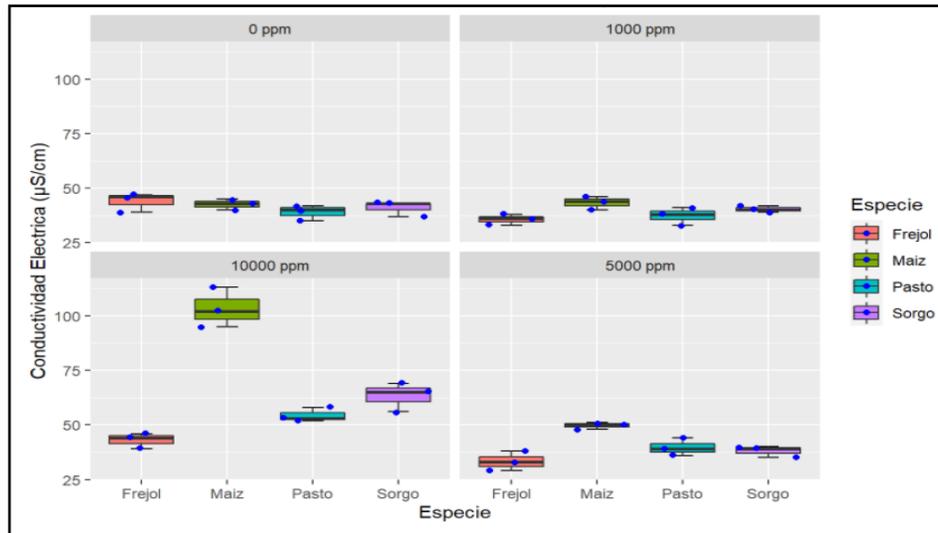
Tabla 20

Máximos, mínimos, media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de conductividad eléctrica antes y después del ensayo experimental.

Especie	Concent ppm	C.E ANTES	Med	Min	Max	Var	Desv Est	Coef. Var	C.E DESPUES	Med	Min	Max	Var	Desv. Est	Coef. Var
maíz	0	45							65						
maíz	0	40	43	40	45	6.333	2.517	0.059	60	63	60	65	6.333	2.517	0.040
maíz	0	43							63						
Frejol	0	47							67						
Frejol	0	46	44	39	47	19.000	4.359	0.099	66	64	59	67	19.000	4.359	0.068
Frejol	0	39							59						
Sorgo	0	43							63						
Sorgo	0	37	41	37	43	12.000	3.464	0.084	57	61	57	63	12.000	3.464	0.057
Sorgo	0	43							63						
Pasto	0	40							60						
Pasto	0	42	39	35	42	13.000	3.606	0.092	62	59	55	62	13.000	3.606	0.061
Pasto	0	35							55						
maíz	1000	46							66						
maíz	1000	44	43	40	46	9.333	3.055	0.071	64	63	60	66	9.333	3.055	0.048
maíz	1000	40							60						
Frejol	1000	33							53						
Frejol	1000	38	36	33	38	6.333	2.517	0.071	58	56	53	58	6.333	2.517	0.045
Frejol	1000	36							56						
Sorgo	1000	40							60						
Sorgo	1000	39	40	39	42	2.333	1.528	0.038	59	60	59	62	2.333	1.528	0.025
Sorgo	1000	42							62						
Pasto	1000	38							58						
Pasto	1000	33	37	33	41	16.333	4.041	0.108	53	57	53	61	16.333	4.041	0.070
Pasto	1000	41							61						
maíz	5000	48							68						
maíz	5000	51	50	48	51	2.333	1.528	0.031	71	70	68	71	2.333	1.528	0.022

Figura 11

Conductividad eléctrica antes del ensayo experimental.



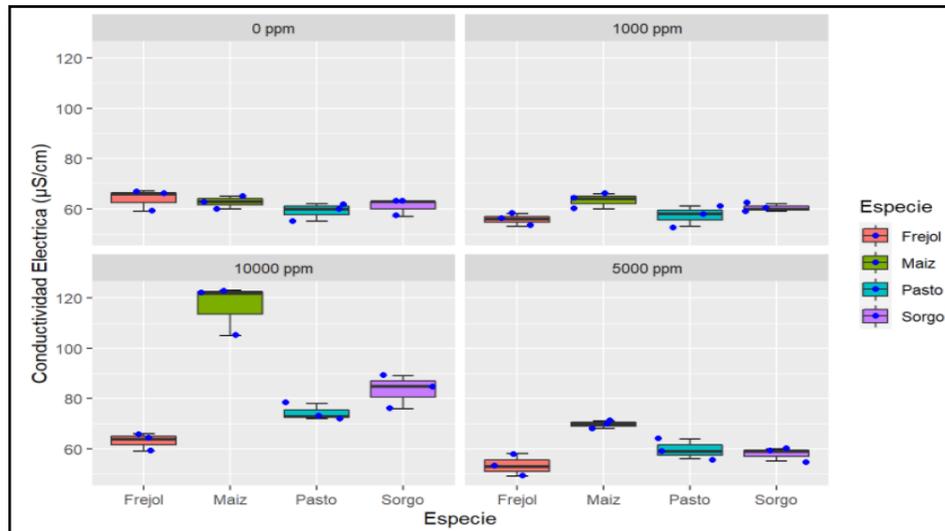
Nota. Medición de conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) al inicio del experimento. (Los autores, 2021).

En la fig. 11 se observa que el testigo (0ppm) presenta una conductividad menor con un rango de 30 a 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$, comparando con los resultados de (Martinez y Lopez, 2011) quienes en su T control obtuvieron 55 a 65 $\mu\text{S}/\text{cm}$, siendo mayor a lo obtenido en este ensayo experimental, esto se podría atribuir a la textura de suelo ya que presentaban un tipo arcilloso, teniendo este un mayor intercambio catiónico que un suelo franco arcilloso como el de este estudio.

A medida que la concentración (1000,5000,10000 ppm) sube se presenta un incremento en los valores de conductividad, (Martinez y Lopez, 2011) presentó la misma tendencia respecto al blanco, debiéndose a que un crudo no refinado posee cierto nivel sales y esto permite un ligero intercambio catiónico.

Figura 12

Conductividad eléctrica después del ensayo experimental.



Nota. Medición de conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$) al final del experimento. (Los autores, 2021).

Comparando con la medición realizada al inicio de la investigación la conductividad eléctrica aumentó en todas las especies y concentraciones. Alba, (2011) menciona que al agregar algún tipo de fertilizante que tenga concentraciones altas en sales como Na, K, Mg, entre otros aportan directamente sales solubles en un suelo sin contaminante, en cambio en las concentraciones con hidrocarburo (1000,5000,10000ppm) romper agregados que liberan cationes y por ende hace que aumente la conductividad.

4.1.3. Humedad

Los valores de humedad al inicio y final del estudio de los 16 trataminetos con sus tres repeticiones se aprecian en el anexo 20, se presenta los máximos, mínimos y media obtenidos.

Tabla 21

Máximos, mínimos, media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de humedad antes y después del ensayo experimental.

Especie	Concent ppm	Humed_ Antes	Med	Min	Max	Var	Desv Est	Coef. Var	Humed_ después	Med	Min	Max	Var	Desv Est	Coef. Var
maíz	0	21							18						
maíz	0	21	21.00	21	21	0.000	0.000	0.000	19	19.00	18	20	1.000	1.000	0.053
maíz	0	21							20						
Frejol	0	20.5							19						
Frejol	0	21	20.50	20	21	0.250	0.500	0.024	20	19.00	18	20	1.000	1.000	0.053
Frejol	0	20							18						
Sorgo	0	19							18						
Sorgo	0	20	20.00	19	21	1.000	1.000	0.050	19	18.33	18	19	0.333	0.577	0.031
Sorgo	0	21							18						
Pasto	0	19							18						
Pasto	0	20	20.00	19	21	1.000	1.000	0.050	19	19.00	18	20	1.000	1.000	0.053
Pasto	0	21							20						
maíz	1000	19							18						
maíz	1000	19	19.33	19	20	0.333	0.577	0.030	18	18.33	18	19	0.333	0.577	0.031
maíz	1000	20							19						
Frejol	1000	18.5							19						
Frejol	1000	19	18.83	19	19	0.083	0.289	0.015	18	19.00	18	20	1.000	1.000	0.053
Frejol	1000	19							20						
Sorgo	1000	20							18						
Sorgo	1000	19	19.33	19	20	0.333	0.577	0.030	18	17.83	18	18	0.083	0.289	0.016
Sorgo	1000	19							17.5						
Pasto	1000	18.5							20						
Pasto	1000	20	19.17	19	20	0.583	0.764	0.040	19	19.00	18	20	1.000	1.000	0.053
Pasto	1000	19							18						
maíz	5000	19							18						
maíz	5000	19	19.33	19	20	0.333	0.577	0.030	18	18.00	18	18	0.000	0.000	0.000
maíz	5000	20							18						
Frejol	5000	19							19						
Frejol	5000	19	19.00	19	19	0.000	0.000	0.000	18	18.33	18	19	0.333	0.577	0.031
Frejol	5000	19							18						
Sorgo	5000	20							19						
Sorgo	5000	20	20.00	20	20	0.000	0.000	0.000	18	18.67	18	19	0.333	0.577	0.031
Sorgo	5000	20							19						
Pasto	5000	19							18						
Pasto	5000	20	19.67	19	20	0.333	0.577	0.029	19	19.00	18	20	1.000	1.000	0.053

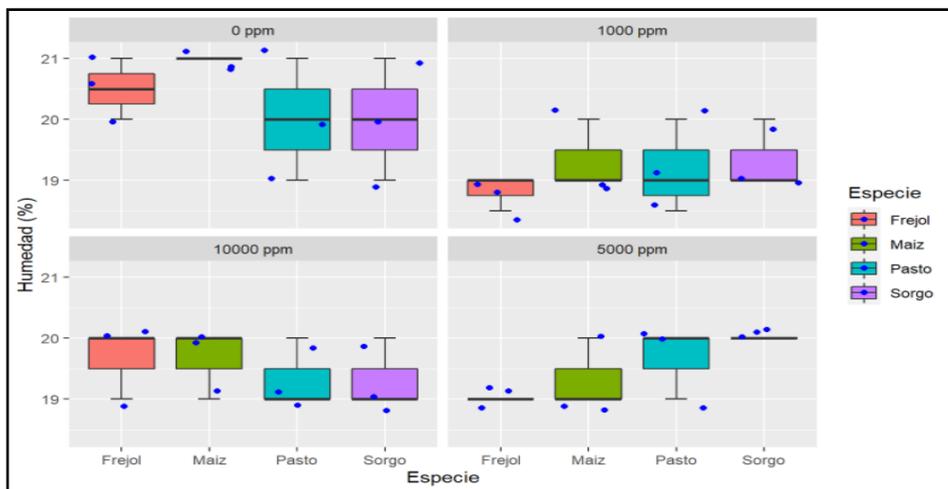
Pasto	5000	20													
maíz	10000	20													
maíz	10000	20	19.67	19	20	0.333	0.577	0.029	18	18.00	18	18	0.000	0.000	0.000
maíz	10000	19													
Frejol	10000	20													
Frejol	10000	20	19.67	19	20	0.333	0.577	0.029	18	18.33	18	19	0.333	0.577	0.031
Frejol	10000	19													
Sorgo	10000	19													
Sorgo	10000	20	19.33	19	20	0.333	0.577	0.030	18	18.33	18	19	0.333	0.577	0.031
Sorgo	10000	19													
Pasto	10000	19													
Pasto	10000	19	19.33	19	20	0.333	0.577	0.030	19	19.00	18	20	1.000	1.000	0.053
Pasto	10000	20													

Nota. Valores máximos, mínimos y media obtenidos de los 16 tratamiento con tres repeticiones respectivamente. (Los autores,2021).

Como se demuestra en la tabla 21 al inicio del experimento la media mas alta de humedad fue 21%, perteneciente a *Zea mays* en 0ppm (testigo), al termino de la investigación la media más alta fue 19% en *Zea mays Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximo jacq* en 0ppm (testigo).

Figura 13

Humedad antes del ensayo experimental.



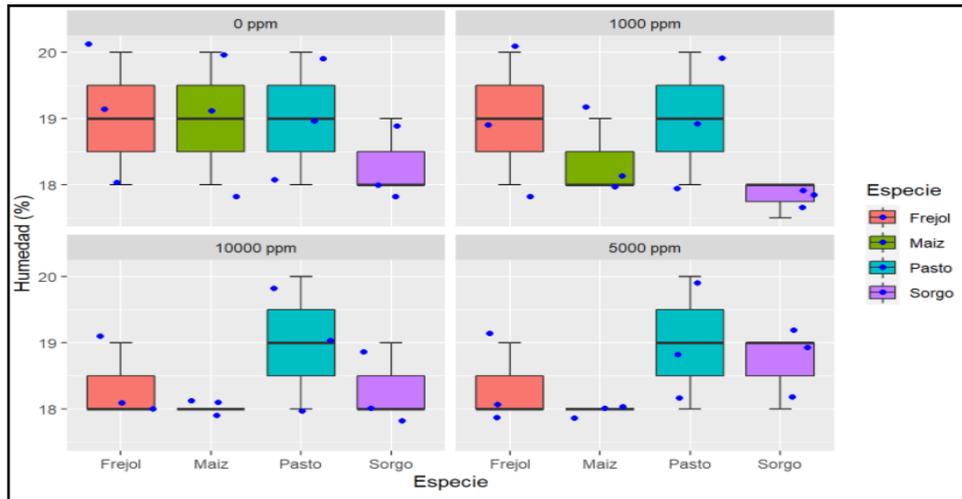
Nota. Medición de la humedad en % al inicio del experimento. (Los autores, 2021).

Se conoce que la humedad de un suelo está relacionada con la textura del mismo (Morales y Serrano, 2019). Como se observa en la figura 13 el testigo 0ppm tiene un rango de 19 a 21 % de humedad, lo que coincide con (Frías y Angella, 2016) quienes mencionan que un suelo franco-arcilloso va a poseer una humedad de 18 a 23 % .

Las concentraciones 1000, 5000 y 10000 ppm, presentan valores más bajos de humedad a comparación de 0 ppm, (Catellanos y Isaza, 2015) menciona que el contaminante hace un efecto impermeabilizante en las partículas de un suelo.

Figura 14

Humedad después del ensayo experimental.



Nota. Medición de la humedad en (%) finalizado el experimento. (Los autores, 2021).

Al comparar estos resultados con los de la fig. 13 los valores de 0ppm se mantuvieron parecidos con un ligero descenso, por otro lado, se aprecia significativamente la reducción de % de humedad en el resto de las concentraciones. Como dijo (Catellanos y Isaza, 2015) esto se debe por un efecto impermeabilizante ya que un hidrocarburo afecta a las partículas del suelo con características poco polares de sus moléculas, también (Schwille, 2009) indica que los TPH siendo fluidos acuosos pueden quedar atrapados por las arcillas y ocupar el lugar en zonas insaturadas donde se debería encontrar el agua.

4.1.4. Carbono Orgánico Total (CO).

Se presentan los resultados de carbono orgánico al inicio y final del estudio de los 16 tratamientos con sus tres repeticiones se aprecian en el anexo 21, se presenta los máximos, mínimos y media obtenidos.

Tabla 22

Máximos, mínimos, media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de carbono orgánico antes y después del ensayo experimental.

Especie	Concent ppm	CO_ Antes	Med	Min	Max	Var	Desv. Est	Coef. Var	CO_ después	Med	Min	Max	Var	Desv. Est	Coef. Var
maíz	0	2.2							1.86						
maíz	0	2.16	2.16	2.12	2.20	0.002	0.040	0.019	1.91	1.87	1.83	1.91	0.002	0.040	0.022
maíz	0	2.12							1.83						
Frejol	0	2.24							1.81						
Frejol	0	2.36	2.29	2.24	2.36	0.004	0.064	0.028	1.88	1.85	1.81	1.88	0.001	0.035	0.019
Frejol	0	2.26							1.85						
Sorgo	0	2.14							1.89						
Sorgo	0	2.28	2.21	2.14	2.28	0.005	0.070	0.032	1.93	1.88	1.81	1.93	0.004	0.061	0.033
Sorgo	0	2.21							1.81						
Pasto	0	2.14							1.85						
Pasto	0	2.25	2.20	2.14	2.25	0.003	0.057	0.026	1.91	1.88	1.85	1.91	0.001	0.030	0.016
Pasto	0	2.22							1.88						
maíz	1000	2.64							2.12						
maíz	1000	2.76	2.69	2.64	2.76	0.004	0.061	0.023	2.06	2.07	2.02	2.12	0.003	0.050	0.024
maíz	1000	2.68							2.02						
Frejol	1000	2.51							2.04						
Frejol	1000	2.43	2.50	2.43	2.55	0.004	0.061	0.024	2.06	2.05	2.04	2.06	0.000	0.012	0.006
Frejol	1000	2.55							2.06						
Sorgo	1000	2.75							2.04						
Sorgo	1000	2.49	2.56	2.43	2.75	0.029	0.170	0.067	2.08	2.04	2.01	2.08	0.001	0.035	0.017
Sorgo	1000	2.43							2.01						
Pasto	1000	2.26							2.04						
Pasto	1000	2.56	2.55	2.26	2.83	0.081	0.285	0.112	2.05	2.04	2.02	2.05	0.000	0.015	0.008
Pasto	1000	2.83							2.02						
maíz	5000	3.12							2.34						
maíz	5000	3.25	3.22	3.12	3.29	0.008	0.089	0.028	2.36	2.36	2.34	2.38	0.000	0.020	0.008
maíz	5000	3.25							2.36						

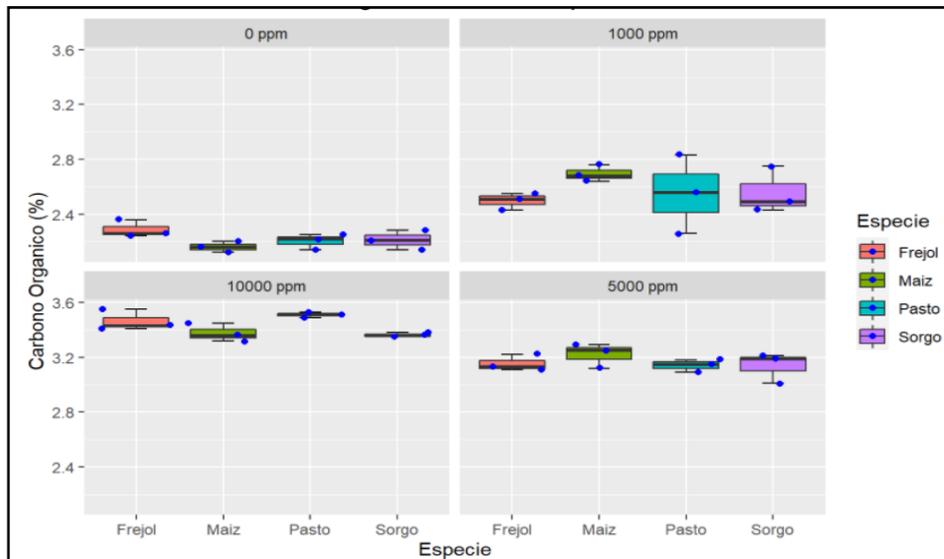
maíz	5000	3.29							2.38						
Frejol	5000	3.22							2.41						
Frejol	5000	3.11	3.15	3.11	3.22	0.003	0.059	0.019	2.43	2.40	2.35	2.43	0.002	0.042	0.017
Frejol	5000	3.13							2.35						
Sorgo	5000	3.21							2.35						
Sorgo	5000	3.19	3.14	3.01	3.21	0.012	0.110	0.035	2.39	2.39	2.35	2.43	0.002	0.040	0.017
Sorgo	5000	3.01							2.43						
Pasto	5000	3.15							2.46						
Pasto	5000	3.18	3.14	3.09	3.18	0.002	0.046	0.015	2.46	2.48	2.46	2.53	0.002	0.040	0.016
Pasto	5000	3.09							2.53						
maíz	10000	3.32							3						
maíz	10000	3.45	3.38	3.32	3.45	0.004	0.067	0.020	2.95	2.95	2.89	3.00	0.003	0.055	0.019
maíz	10000	3.36							2.89						
Frejol	10000	3.43							3.02						
Frejol	10000	3.41	3.46	3.41	3.55	0.006	0.076	0.022	3.01	3.02	3.01	3.03	0.000	0.010	0.003
Frejol	10000	3.55							3.03						
Sorgo	10000	3.38							2.95						
Sorgo	10000	3.36	3.36	3.35	3.38	0.000	0.015	0.005	2.93	2.96	2.93	3.01	0.002	0.042	0.014
Sorgo	10000	3.35							3.01						
Pasto	10000	3.53							3.05						
Pasto	10000	3.49	3.51	3.49	3.53	0.000	0.020	0.006	3.08	3.07	3.05	3.09	0.000	0.021	0.007
Pasto	10000	3.51							3.09						

Nota. Valores máximos, mínimos y media obtenidos de los 16 tratamiento con tres repeticiones respectivamente. (Los autores,2021).

La media más alta al inicio de la investigación fue de 3.46 %, siendo esta de la concentración 10000 ppm y con 2.16% siendo la media más baja perteneciente al testigo. Al finalizar el ensayo experimental se presentó un máximo de 3.09% en 10000 ppm y un mínimo 1.85 % en la concentración testigo. Infiriendo que el suelo al entrar en contacto con el hidrocarburo aumentó su concentración de CO.

Figura 15

Carbono orgánico antes del ensayo experimental.



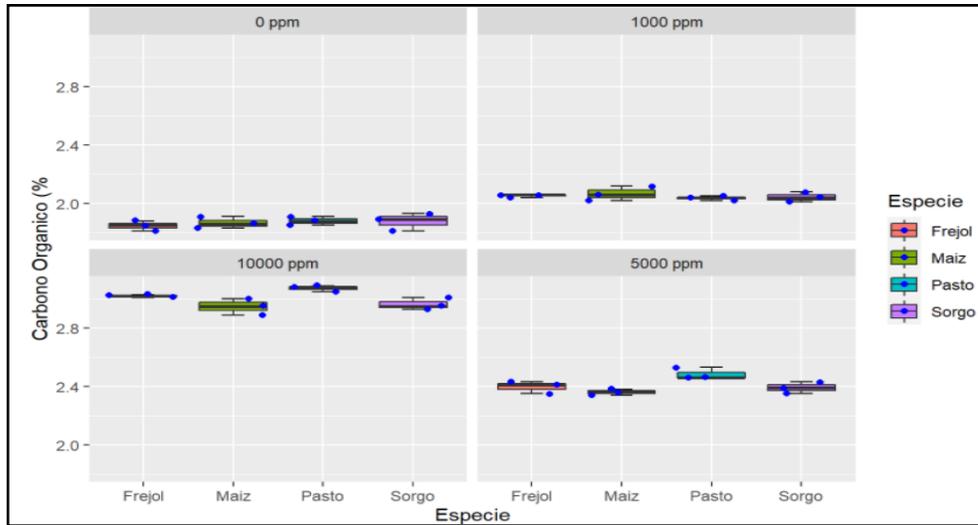
Nota. Medición de carbono orgánico total en (%) al inicio del experimento. (Los autores, 2021).

En la fig.15 el rango en el que se encuentra el carbono orgánico total va de 2 a 3.6. Concordando con (Hontoria y Rodriguez, 2004) que exponen que el CO depende de su uso, por tal razón la media para un suelo agrícola ubicado dentro de un bosque o humedal es de 3.9, por lo que los resultados de este estudio estarían dentro de ese valor.

El incremento de % de CO en los suelos que contienen el crudo, (Sangabriel et al., 2006) argumenta que se debe a la reacción de microorganismos ante el contaminante y su capacidad de poder aplicarlo como una fuente de carbono y de energía.

Figura 16

Carbono Orgánico después del ensayo experimental.



Nota. Medición de carbono orgánico total en (%) finalizado el experimento. (Los autores, 2021).

A comparación de la primera medición, la fig. 15 denota como el porcentaje de CO ha disminuido en todas las concentraciones (Etcheverría y Barahona, 2018) dice que este evento puede deberse a la descomposición de microorganismos y/o erosión del suelo, ya que durante dicha descomposición el CO se libera como CO₂ y sin un ingreso continuo de MO la cantidad almacenada disminuirá con el tiempo.

Se reiteró la subida de CO en las concentraciones 1000, 5000 y 10000 a comparación de 0ppm puede darse a que se ha desarrollado mayor población microbiana con una diversidad fenotípica de bacterias degradadoras y no degradadoras en presencia de hidrocarburos de petróleo, siendo estas que han utilizado dicho CO como fuente de carbono y energía (Sangabriel et al., 2006).

4.1.5. Nitrógeno (N).

Los valores de nitrógeno al inicio y final del estudio de los 16 trataminetos con sus tres repeticiones se aprecian en el anexo 22, se presenta los máximos, mínimos y media obtenidos.

Tabla 23

Máximos, mínimos, media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de nitrógeno antes y después del ensayo experimental.

Especie	Concent ppm	N Antes	Med	Min	Max	Var	Desv Est	Coef. Var	N después	Med	Min	Max	Var	Desv Est	Coef. Var
maíz	0	0.26							0.16						
maíz	0	0.26	0.26	0.25	0.26	0.000	0.006	0.022	0.22	0.19	0.16	0.22	0.001	0.030	0.158
maíz	0	0.25							0.19						
Frejol	0	0.24							0.18						
Frejol	0	0.23	0.23	0.23	0.24	0.000	0.006	0.025	0.21	0.20	0.18	0.21	0.000	0.015	0.078
Frejol	0	0.23							0.2						
Sorgo	0	0.26							0.21						
Sorgo	0	0.24	0.25	0.24	0.26	0.000	0.012	0.046	0.19	0.19	0.17	0.21	0.000	0.020	0.105
Sorgo	0	0.26							0.17						
Pasto	0	0.26							0.21						
Pasto	0	0.27	0.27	0.26	0.27	0.000	0.006	0.022	0.2	0.21	0.20	0.22	0.000	0.010	0.048
Pasto	0	0.27							0.22						
maíz	1000	0.21							0.17						
maíz	1000	0.2	0.20	0.20	0.21	0.000	0.006	0.028	0.17	0.17	0.17	0.18	0.000	0.006	0.033
maíz	1000	0.2							0.18						
Frejol	1000	0.21							0.2						
Frejol	1000	0.22	0.21	0.21	0.22	0.000	0.006	0.027	0.19	0.18	0.15	0.20	0.001	0.026	0.147
Frejol	1000	0.21							0.15						
Sorgo	1000	0.21							0.16						
Sorgo	1000	0.2	0.21	0.20	0.21	0.000	0.006	0.028	0.18	0.17	0.16	0.18	0.000	0.012	0.067
Sorgo	1000	0.21							0.18						
Pasto	1000	0.22							0.19						
Pasto	1000	0.21	0.21	0.21	0.22	0.000	0.006	0.027	0.18	0.19	0.18	0.19	0.000	0.006	0.031
Pasto	1000	0.21							0.19						

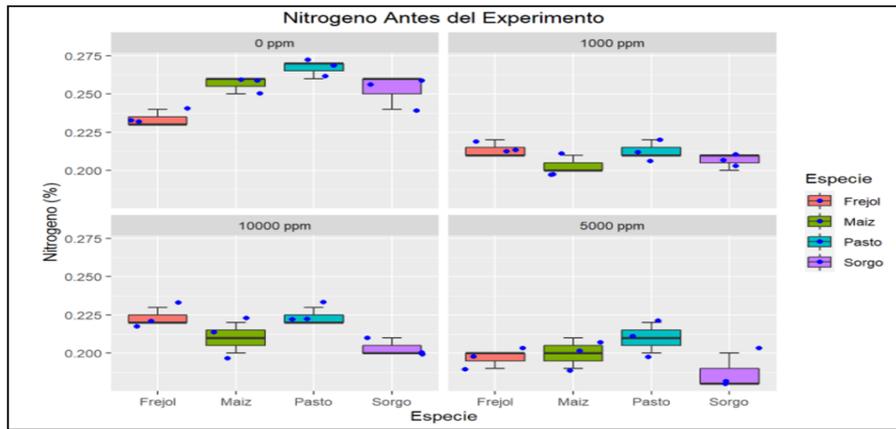
maíz	5000	0.2							0.34						
maíz	5000	0.19	0.20	0.19	0.21	0.000	0.010	0.050	0.35	0.34	0.33	0.35	0.000	0.010	0.029
maíz	5000	0.21							0.33						
Frejol	5000	0.2							0.35						
Frejol	5000	0.2	0.20	0.19	0.20	0.000	0.006	0.029	0.37	0.36	0.35	0.37	0.000	0.010	0.028
Frejol	5000	0.19							0.36						
Sorgo	5000	0.18							0.34						
Sorgo	5000	0.18	0.19	0.18	0.20	0.000	0.012	0.062	0.36	0.35	0.34	0.36	0.000	0.010	0.029
Sorgo	5000	0.2							0.35						
Pasto	5000	0.2							0.37						
Pasto	5000	0.22	0.21	0.20	0.22	0.000	0.010	0.048	0.38	0.37	0.36	0.38	0.000	0.010	0.027
Pasto	5000	0.21							0.36						
maíz	10000	0.22							0.35						
maíz	10000	0.2	0.21	0.20	0.22	0.000	0.010	0.048	0.34	0.35	0.34	0.35	0.000	0.006	0.017
maíz	10000	0.21							0.35						
Frejol	10000	0.23							0.36						
Frejol	10000	0.22	0.22	0.22	0.23	0.000	0.006	0.026	0.37	0.37	0.36	0.37	0.000	0.006	0.016
Frejol	10000	0.22							0.37						
Sorgo	10000	0.2							0.34						
Sorgo	10000	0.2	0.20	0.20	0.21	0.000	0.006	0.028	0.36	0.35	0.34	0.36	0.000	0.010	0.029
Sorgo	10000	0.21							0.35						
Pasto	10000	0.22							0.38						
Pasto	10000	0.23	0.22	0.22	0.23	0.000	0.006	0.026	0.38	0.38	0.38	0.38	0.000	0.000	0.000
Pasto	10000	0.22							0.38						

Nota. Valores máximos, mínimos y media obtenidos de los 16 tratamiento con tres repeticiones respectivamente. (Los autores,2021).

Como se aprecia en la tabla 23 al inicio del estudio la media más alta se presenta en la concentración 0 ppm con 0.27% y al finalizar el ensayo experimental se presenta la media más alta en 10000 ppm con 0.38%, lo que sugiere que el porcentaje de nitrógeno aumento durante el estudio.

Figura 17

Nitrógeno antes del ensayo experimental.

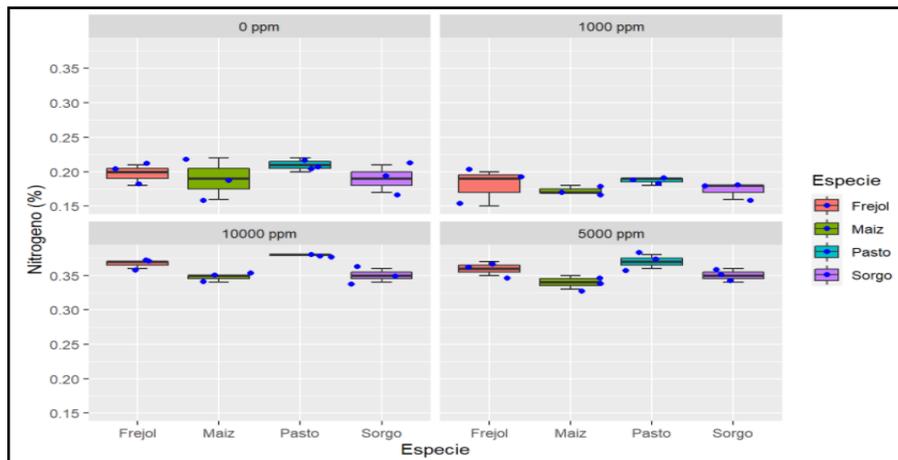


Nota. Medición de nitrógeno en (%) al inicio del experimento. (Los autores, 2021).

La figura indica que el rango de nitrógeno expresado en % va de 0.18 a 0.27. Se observa que el blanco (0ppm) es el que posee una mayor cantidad de N con relación a las demás concentraciones. Este evento también les sucedió a (Martínez y Pérez, 2011) donde su T control fue superior (0.52%) con respecto a las concentraciones con hidrocarburos (0.36%), según (Viñas, 2005) puede darse por la absorción del hidrocarburo de micro y macronutrientes.

Figura 18

Nitrógeno después del ensayo experimental.



Nota. Medición de nitrógeno en (%) al finalizar el experimento. (Los autores, 2021).

Se observa en la fig.18 que las concentraciones 0 y 1000 mg/kg bajaron sus niveles de nitrógeno, pudiendo suceder esto debido a la lixiviación de nitratos y amonio del suelo mostrándose una desnitrificación (Iturbe y Flores, 2001), en cambio 5000 y 10000 ppm incrementaron sus valores comparando a la medición realizada al inicio del ensayo experimental. Según (Fernández M. , 2020) sucediendo esto por ciertos microorganismos que facilitan de forma directa o indirecta la disponibilidad de nutrientes como N (fijadoras de nitrógeno), P y agua.

Cabe mencionar que el incremento de nitrógeno en ciertas concentraciones también puede darse por las especies vegetales empleadas, ya que las leguminosas tienen la capacidad de introducir nitrógeno atmosférico a la fuente contaminada y así estimular una mayor actividad microbiana, en cambio las gramíneas pueden desarrollar sistemas radicales más profundos y por ende ayudar a la captación de nitrógeno atmosférico a través de procesos simbióticos (Sangabriel et al., 2006).

4.1.6. Fósforo (P).

Los valores de fósforo al inicio y final del estudio de los 16 trataminetos con sus tres repeticiones se aprecian en el anexo 23, se presenta los máximos, mínimos y media obtenidos.

Tabla 24

Máximos, mínimos, media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de fósforo antes y después del ensayo experimental.

Especie	Concent ppm	P Antes	Med	Min	Max	Var	Desv Est	Coef. Var	P después	Med	Min	Max	Var	Desv Est	Coef. Var
maíz	0	0.19							2.17						
maíz	0	0.2	0.19	0.19	0.20	0.000	0.006	0.030	2.18	2.18	2.17	2.18	0.000	0.006	0.003
maíz	0	0.19							2.18						
Frejol	0	0.2							2.16						
Frejol	0	0.19	0.19	0.19	0.20	0.000	0.006	0.030	2.19	2.17	2.16	2.19	0.000	0.015	0.007
Frejol	0	0.19							2.17						
Sorgo	0	0.18							2.16						
Sorgo	0	0.18	0.18	0.18	0.19	0.000	0.006	0.031	2.18	2.17	2.16	2.18	0.000	0.012	0.005
Sorgo	0	0.19							2.16						
Pasto	0	0.2	0.20	0.20	0.20	0.000	0.000	0.000	2.19	2.19	2.18	2.19	0.000	0.006	0.003

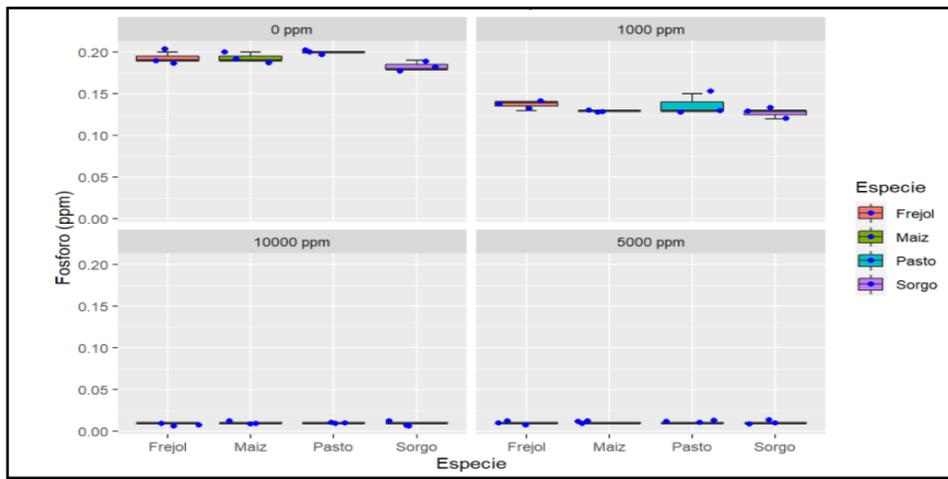
Pasto	0	0.2							2.18						
Pasto	0	0.2							2.19						
maíz	1000	0.13							1.63						
maíz	1000	0.13	0.13	0.13	0.13	0.000	0.000	0.000	1.65	1.65	1.63	1.66	0.00	0.015	0.009
maíz	1000	0.13							1.66						
Frejol	1000	0.14							1.66						
Frejol	1000	0.13	0.14	0.13	0.14	0.000	0.006	0.042	1.68	1.66	1.65	1.7	0.00	0.015	0.009
Frejol	1000	0.14							1.65						
Sorgo	1000	0.13							1.67						
Sorgo	1000	0.13	0.13	0.12	0.13	0.000	0.006	0.046	1.66	1.66	1.65	1.67	0.000	0.010	0.006
Sorgo	1000	0.12							1.65						
Pasto	1000	0.15							1.67						
Pasto	1000	0.13	0.14	0.13	0.15	0.000	0.012	0.084	1.65	1.66	1.65	1.67	0.000	0.010	0.006
Pasto	1000	0.13							1.66						
maíz	5000	0.01							1.24						
maíz	5000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.000	0.000	1.26	1.25	1.24	1.26	0.000	0.010	0.008
maíz	5000	0.01							1.25						
Frejol	5000	0.01							1.25						
Frejol	5000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.000	0.000	1.28	1.26	1.25	1.28	0.000	0.015	0.012
Frejol	5000	0.01							1.26						
Sorgo	5000	0.01							1.25						
Sorgo	5000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.000	0.000	1.24	1.25	1.24	1.27	0.000	0.015	0.012
Sorgo	5000	0.01							1.27						
Pasto	5000	0.01							1.29						
Pasto	5000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.000	0.000	1.28	1.28	1.26	1.29	0.000	0.015	0.012
Pasto	5000	0.01							1.26						
maíz	10000	0.01							1.26						
maíz	10000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.000	0.000	1.24	1.24	1.23	1.26	0.000	0.015	0.012
maíz	10000	0.01							1.23						
Frejol	10000	0.01							1.25						
Frejol	10000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.000	0.000	1.26	1.26	1.25	1.27	0.000	0.010	0.008
Frejol	10000	0.01							1.27						
Sorgo	10000	0.01							1.26						
Sorgo	10000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.000	0.000	1.24	1.25	1.24	1.26	0.000	0.012	0.009
Sorgo	10000	0.01							1.24						
Pasto	10000	0.01							1.27						
Pasto	10000	0.01	0.01	0.01	0.01	0.000	0.000	0.000	1.27	1.27	1.27	1.27	0.000	0.000	0.000
Pasto	10000	0.01							1.27						

Nota. Valores máximos, mínimos y media obtenidos de los 16 tratamiento con 3 repeticiones respectivamente. (Los autores,2021).

En la tabla 24 cabe mencionar que los valores de media, mínimo y máximos a partir de la concentración 5000 ppm en todas las especies es de 0.01 ppm, esto sucede al inicio del estudio; la media más alta se presentó en la concentración 0 con un valor de 0.20 ppm. Al término del ensayo experimental los valores de todas las especies y concentraciones se incrementaron a gran medida, en donde la media más alta se presentó en el testigo con un valor de 2.19 ppm.

Figura 19

Fósforo antes del ensayo experimental.



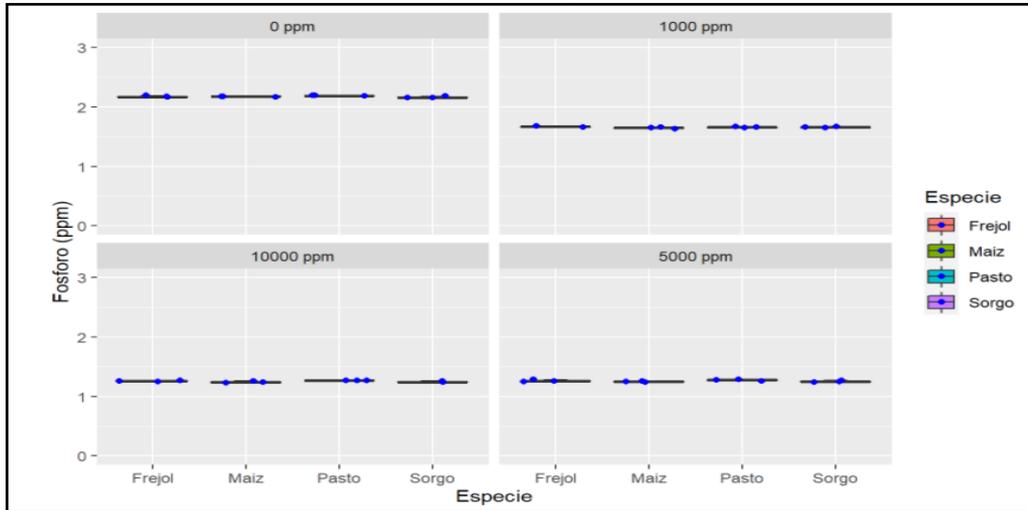
Nota. Medición de fósforo en (ppm) al inicio del experimento. (Los autores, 2021).

De esta figura se denota que las concentraciones 0 y 1000 ppm tienen valores superiores de P con respecto a 5000 y 10000 ppm. El rango en el que se encuentra este parámetro es de 0.01 a 0.2 ppm, pudiendo observar un bajo nivel de fósforo en el suelo. (Fernández M. , 2020) manifiesta que la mayoría de los suelos tienen un déficit de P y una de las causas es el nivel de pH, ya que mientras más neutro (6-7) o alcalino la solubilidad de este nutriente menora ya que reacciona con el calcio y por ende forma compuestos insolubles como el fosfato de calcio (INTAGRI, 2017).

En las concentraciones 5000 y 10000 se aprecia un nivel de P de 0.01, esto puede deberse al contacto con grandes cantidades de carbono que poseen los hidrocarburos, perturbando de esta manera el balance natural de nutrientes como N y P (Martínez y Pérez, 2011).

Figura 20

Fósforo después del ensayo experimental.



Nota. Medición de fósforo en (ppm) al finalizar el experimento (Los autores, 2021).

Al comparar estos resultados con los de la primera medición se puede decir que los valores de P incrementaron a gran medida en todas las concentraciones. Como mencionaba (Fernández M. , 2020) existen ciertos microorganismos que favorecen de forma directa o indirecta la disponibilidad de nutrientes tales como N, P (fijadoras de fósforo), y agua.

Además de la actividad microbiana natural para el incremento de P, se empleó fertilizantes durante el ensayo experimental para suplir las necesidades nutricionales de cada especie vegetal estudiada, siendo esto un factor importante para el incremento de fósforo en el suelo.

4.1.7. Potasio (K).

Los valores de potasio al inicio y final del estudio de los 16 tratamietos con sus tres repeticiones se aprecian en el anexo 24, se presenta los máximos, mínimos y media obtenidos.

Tabla 25

Máximos, mínimos, media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de potasio antes y después del ensayo experimental.

Espe cie	Concen t ppm	K Ante s	Me d	Min	Ma x	Var	Desv Est	Coef. Var	K Despué s	Me d	Min	Ma x	Var	Desv · Est	Coef. Var
maíz	0	0.23		0.2	0.2	0.00	0.00	0.00	0.17						
maíz	0	0.23	0.23	3	3	0	0	0	0.14	0.15	0.1	0.1	0.00	0.01	0.10
maíz	0	0.23							0.15		4	7	0	5	0
Frejol	0	0.24							0.16						
Frejol	0	0.23	0.23	3	4	0	0.00	0.02	0.14	0.15	0.1	0.1	0.00	0.01	0.06
Frejol	0	0.23							0.15		4	6	0	0	7
Sorgo	0	0.22							0.17						
Sorgo	0	0.22	0.22	2	3	0	0.00	0.02	0.15	0.16	0.1	0.1	0.00	0.01	0.07
Sorgo	0	0.23							0.17		5	7	0	2	1
Pasto	0	0.23							0.15						
Pasto	0	0.23	0.23	3	4	0	0.00	0.02	0.15	0.15	0.1	0.1	0.00	0.00	0.03
Pasto	0	0.24							0.16		5	6	0	6	8
maíz	1000	0.25							0.18						
maíz	1000	0.24	0.24	4	5	0	0.00	0.02	0.19	0.18	0.1	0.1	0.00	0.01	0.08
maíz	1000	0.24							0.16		6	9	0	5	6
Frejol	1000	0.25							0.19						
Frejol	1000	0.25	0.25	5	5	0	0.00	0.00	0.18	0.18	0.1	0.1	0.00	0.01	0.08
Frejol	1000	0.25							0.16		6	9	0	5	6
Sorgo	1000	0.23							0.16						
Sorgo	1000	0.25	0.24	3	5	0	0.01	0.04	0.18	0.17	0.1	0.1	0.00	0.01	0.05
Sorgo	1000	0.24							0.17		6	8	0	0	9
Pasto	1000	0.25							0.18						
Pasto	1000	0.25	0.25	5	5	0	0.00	0.00	0.18	0.18	0.1	0.1	0.00	0.00	0.03
Pasto	1000	0.25							0.17		7	8	0	6	3
maíz	5000	0.25							0.19						
maíz	5000	0.25	0.25	5	5	0	0.00	0.00	0.2	0.20	0.1	0.2	0.00	0.01	0.05
maíz	5000	0.25							0.21		9	1	0	0	0
Frejol	5000	0.25							0.2						
Frejol	5000	0.26	0.25	5	6	0	0.00	0.02	0.19	0.20	0.1	0.2	0.00	0.00	0.02
Frejol	5000	0.25							0.2		9	0	0	6	9
Sorgo	5000	0.25							0.18						
Sorgo	5000	0.23	0.24	3	5	0	0.01	0.04	0.2	0.18	0.1	0.2	0.00	0.01	0.08
Sorgo	5000	0.25							0.17		7	0	0	5	3
Pasto	5000	0.25							0.2						
Pasto	5000	0.25	0.25	5	5	0	0.00	0.00	0.19	0.20	0.1	0.2	0.00	0.00	0.02
Pasto	5000	0.25							0.2		9	0	0	6	9

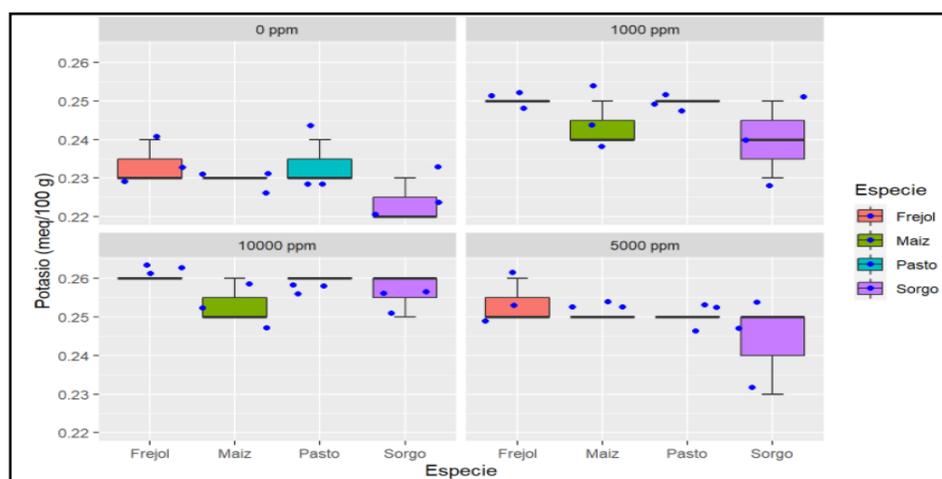
maíz	10000	0.26							0.21						
maíz	10000	0.25	0.25	0.2	0.2	0.00	0.00	0.02	0.19	0.21	0.1	0.2	0.00	0.02	0.09
maíz	10000	0.25							0.23						
Frejol	10000	0.26							0.21						
Frejol	10000	0.26	0.26	0.2	0.2	0.00	0.00	0.00	0.2	0.20	0.1	0.2	0.00	0.01	0.07
Frejol	10000	0.26							0.18						
Sorgo	10000	0.25							0.23						
Sorgo	10000	0.26	0.26	0.2	0.2	0.00	0.00	0.02	0.19	0.21	0.1	0.2	0.00	0.02	0.09
Sorgo	10000	0.26							0.21						
Pasto	10000	0.26							0.23						
Pasto	10000	0.26	0.26	0.2	0.2	0.00	0.00	0.00	0.19	0.22	0.1	0.2	0.00	0.02	0.10
Pasto	10000	0.26							0.23						

Nota. Valores máximos, mínimos y media obtenidos de los 16 tratamiento con tres repeticiones respectivamente. (Los autores,2021).

Al inicio del experimento la media mas alta es de 0.26 meq/100g presentandose el mismo valor en la concentracion 10000 ppm, de todas las especies vegetales, por el contrario al termino de la investigacion la media mas alta es de 0.22 meq/100g en 10000 ppm en la especie *Panicum máximum* jacq, sugiriendo que hubo un descenso durante el ensayo experimental en los valores de potasio.

Figura 21

Potasio antes del ensayo experimental.



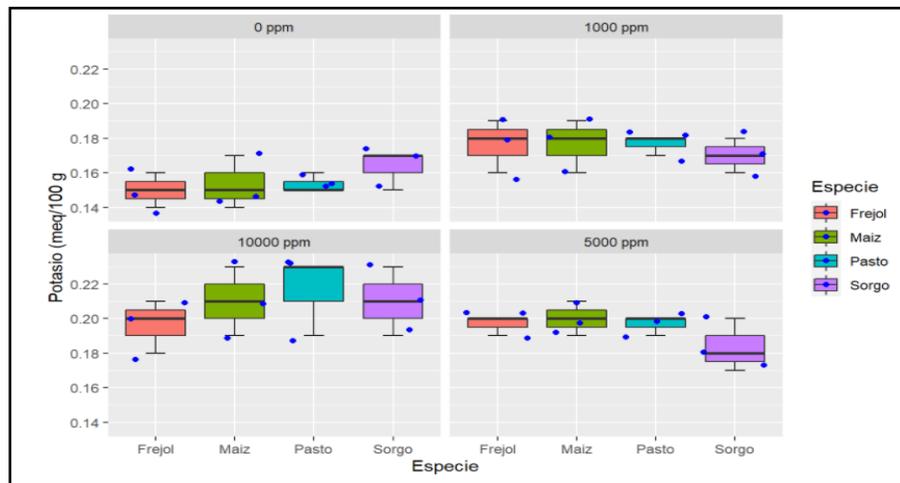
Nota. Medición de potasio en (meq/100g) al inicio del experimento. (Los autores, 2021).

Como se demuestra en la fig.21 las mediciones de potasio tienen una relación directamente proporcional a las concentraciones, es decir que a mayor valor de P mayor es la concentración. Este parámetro se encuentra dentro de un rango de 0.22 a 0.26. Esto concuerda con (Barcenas y Yáñez, 2012) que obtuvo una media de 0.25 meq/100g para el K.

Este incremento de potasio en las concentraciones pueden darse por la fijación del mismo debido a factores como la humedad y el pH, (INTAGRI, 2017) en el primero se explica que a medida que se presenta un bajo % de humedad la fijación aumenta y en este caso se tiene un % menor al comparado con el del testigo por lo que se cumpliría esta afirmación, con respecto al pH a medida que este incremente también lo hace la fijación de potasio, en el estudio se presentan valores de pH similares o mayores al del testigo, sugiriendo también una afirmación de este factor.

Figura 22

Potasio después del ensayo experimental.



Nota. Medición de potasio en (meq/100g) al finalizar el experimento. (Los autores, 2021).

Al comparar los resultados de las mediciones de potasio con la figura 21 se puede decir que hay un descenso en los valores al finalizar el ensayo experimental, (Hernández y Barbazán, 2010) manifiesta que este macronutriente menora en regiones húmedas por el lavado del mismo,

es decir la acumulación de agua y por ende lixiviados. De igual manera existe la misma relación directamente proporcional entre las concentraciones y las mediciones de K. El rango en que se encuentran los valores de esta figura va de 0.14 a 0.23 (meq/100g).

4.2. Análisis Microbiológicos.

Se presentan los resultados del análisis microbiológicos que se realizó en el ensayo experimental.

4.2.1. Tinción Gram

Tabla 26

Resultados de Tinción Gram

Cepas aisladas	Resultados tinción Gram
Cepa 1	+
Cepa 2	-
Cepa 3	-
Cepa 4	+
Cepa 5	-

Nota. Resultados del análisis microscópico de tinción Gram. (Los autores, 2021).

Se describe en la tabla 26 los resultados de la tinción Gram de las cinco cepas aisladas que presentaron potencial para degradar hidrocarburos.

4.2.2. Pruebas Bioquímicas

Se presentan los resultados de las cepas que presentaron un potencial de remoción de hidrocarburo:

Figura 23*Resultados pruebas bioquímicas.*

Cepa aislada	Pruebas bioquímicas				Identificación	Observación
	Catalasa	Lactosa	Ureasa	Citrato		
Cepa 1	+	+	+	+	Tentativamente <i>Streptomyces</i>	Cepa con potencial degradador de hidrocarburo con capacidad de crecimiento en suelo con Diésel (Cando,2011).
Cepa 2	+	-	-	-	Tentativamente <i>Clostridium</i>	Cepa con potencial degradador de hidrocarburo (Rodríguez, 2013).
Cepa 3	-	-	-	+	Tentativamente <i>Enterobacter</i>	Cepa con potencial degradador de hidrocarburo de rápido crecimiento (Reyes & Casanova, 2018).
Cepa 4	+	+	-	-	Tentativamente <i>Bacillus</i>	Cepa con potencial degradador de hidrocarburo (Reyes & Casanova, 2018).
Cepa 5	-	-	+	+	Tentativamente <i>Citrobacter</i>	Cepa con potencial crecimiento sobre el crudo, viable para una remediación de hidrocarburos(Escalante, 2007).

Nota. (Los autores, 2021).

Se presentan los resultados de las pruebas bioquímicas, para conocer que tipos de microorganismos formaban parte de la microbiota del suelo y si alguna de ellas era conocida por su potencial de degradación de hidrocarburo, como se puede observar en la figura 23 se detectó presencia de bacterias degradadoras.

(Reyes y Casanova, 2018) mencionan que *Bacillus* sp y *Enterobacter* sp son cepas degradadoras de hidrocarburo de rápido crecimiento, las mismas que al entrar en contacto con el contaminante aumentan su actividad microbiana logrando remover naturalmente un 0.17% de crudo, son muy utilizadas para inyectar artificialmente en suelos con alta concentración de hidrocarburos.

De igual manera (Rodríguez, 2013) indica que encontró un 20.6% de *Bacillus* y *Clostridium* en la microbiota del suelo antes de iniciar su investigación. (Escalante, 2007) manifiesta que *Citrobacter freundii* presentó un 100% de crecimiento sobre el crudo por lo que es viable para una remediación de hidrocarburos.

Se puede interpretar los resultados de la figura 23 en base a los autores mencionados que se presentó bacterias que son aptas para la degradación de hidrocarburos y que pudieron a ver contribuido en la degradación de los mismos,

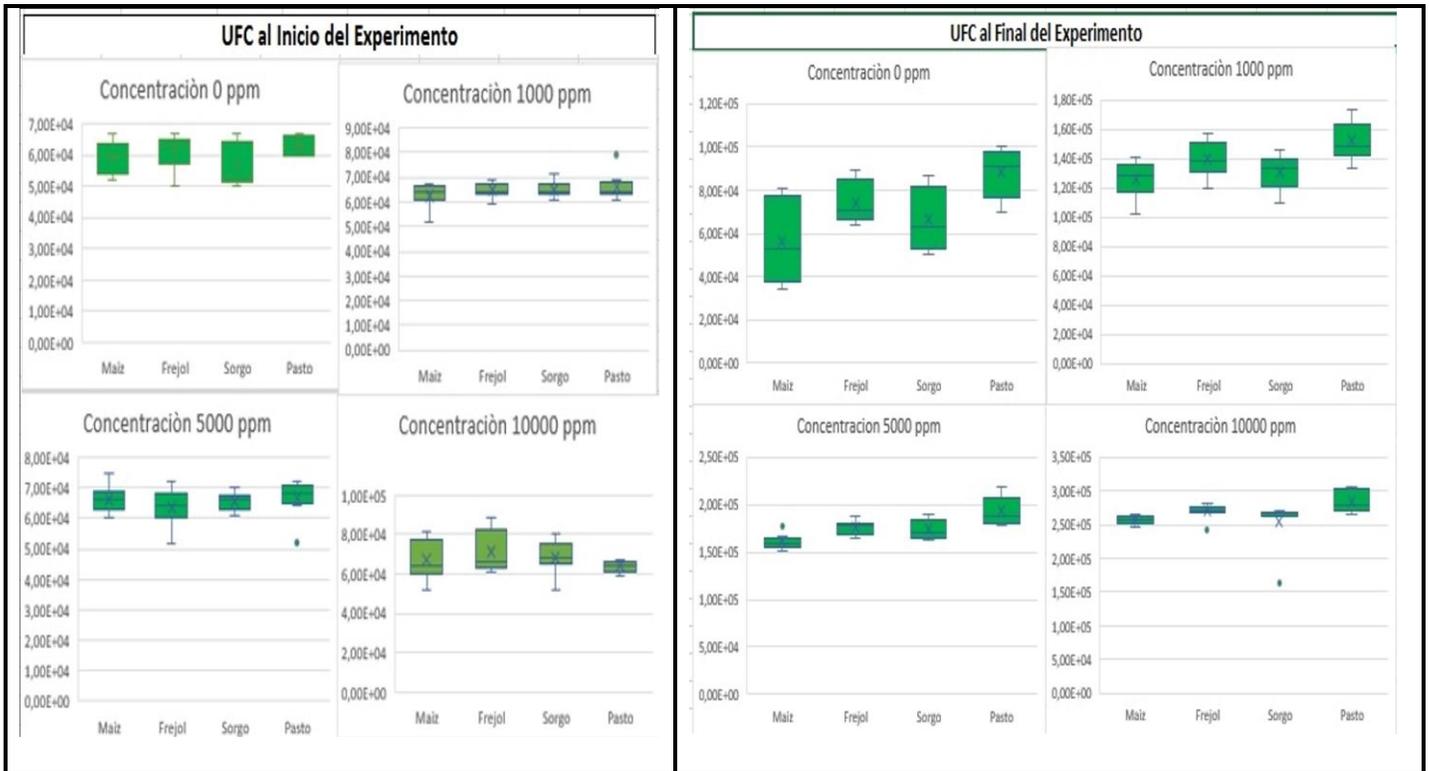
4.2.3. UFC.

Se realizó el conteo de las UFC al inicio y al término del ensayo experimental (anexo 25), con la finalidad de presenciar cambios según la concentración y especies analizadas, así como la relación planta-raíz-microorganismo que se pudo dar.

A continuación, se presentan los resultados:

Figura 24

UFC, inicio y final del ensayo experimental.



Nota. Representación gráfica de las UFC/g al inicio y al término del experimento. (Los autores, 2021).

Los valores obtenidos del conteo de la UFC/g se encuentran en el anexo 25. Como se aprecia en la figura 24 de manera notable las diferencias en el conteo de UFC/g tanto al inicio como al final del ensayo experimental, pudiendo destacar que las especies con mayor comunidad microbiana al término del estudio son *Panicum máximum* jacq y *Phaseolus vulgaris*. Coincidiendo estos resultados con los de la biomasa radicular presentadas en la fig.64, existiendo una relación planta- raíz -microorganismos.

Se conoce que la actividad microbiana, está estrechamente ligada con el comportamiento de la rizosfera de la planta (raíz), ya que la interacción raíz-microorganismo contribuye a la remoción, reducción, estabilización o degradación de un contaminante (Sangabriel et al., 2006) por ende se

aprecia un aumento en las UFC al finalizar el estudio. (Davis y Catro, 2002) menciona que el efecto directo que tienen las raíces al aumento de microorganismos es la secreción de exudados que van a contribuir en la proliferación de los mismos, clave para la degradación y desintoxicación de contaminantes, los microorganismos son comúnmente estimulados cuando entran en contacto con hidrocarburos de petróleo (Carrasco, 2017).

4.3. Análisis estadísticos.

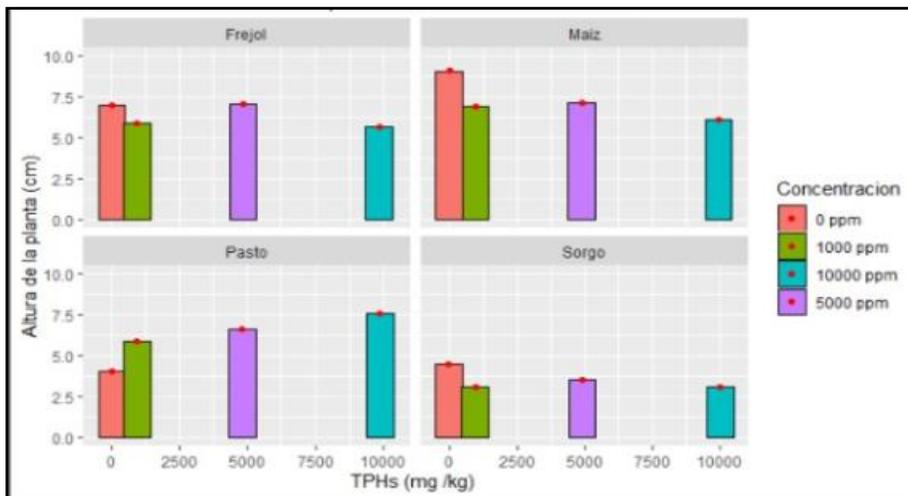
4.3.1. Análisis de variables vs TPH.

Los promedios de todas las variables estudiadas de los 120 días de duración del estudio se encuentran en el anexo 26.

4.3.1.1. Altura de la planta.

Figura 25

Altura vs TPH a los 15 días.

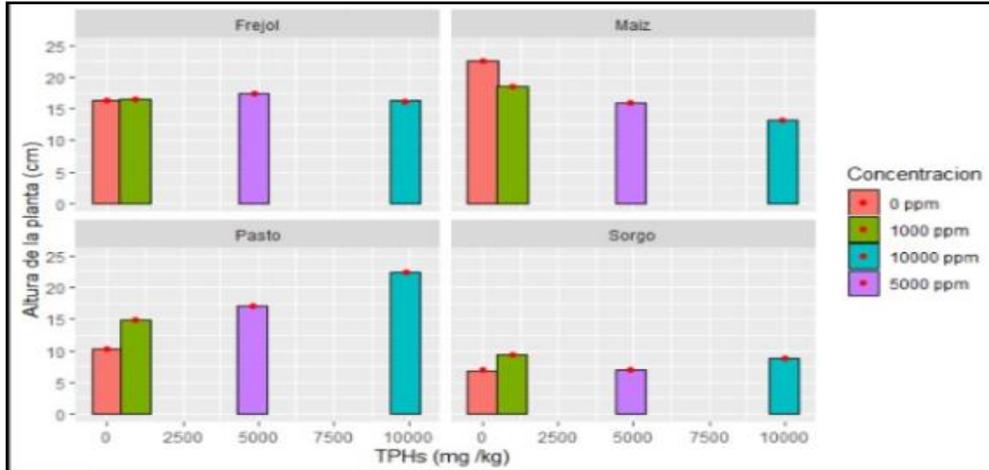


Nota. Medición de altura en cm a los 15 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021)

Se aprecia que la altura en los primeros 15 días al inicio del estudio la especie que sobresale es *Panicum máximo* jacq en la concentración 10000 ppm, contrariamente a *Zea mays*, *Sorghum vulgare*, *Phaseolus vulgaris* que alcanza una mayor altura en 0 ppm (testigo).

Figura 26

Altura vs TPH a los 30 días.

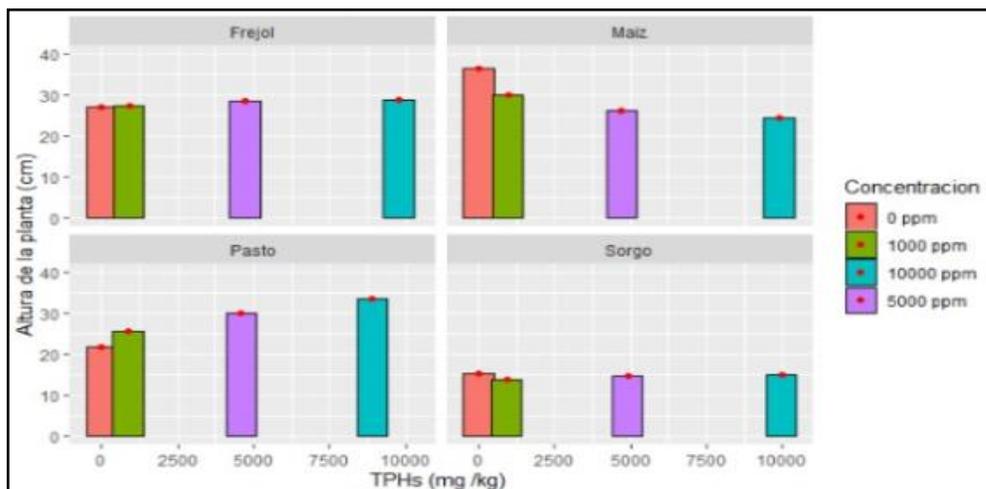


*Nota.*Medición de altura en cm a los 30 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 30 días la especie con mayor altura es *Panicum máximo* jacq en la concentración 10000 ppm, *Zea mays* sobresale en el testigo, *Sorghum vulgare* tiene mayor crecimiento en 1000 ppm y *Phaseolus vulgaris* se destaca su desarrollo en la concentración 5000 ppm.

Figura 27

Altura vs TPH a los 45 días.

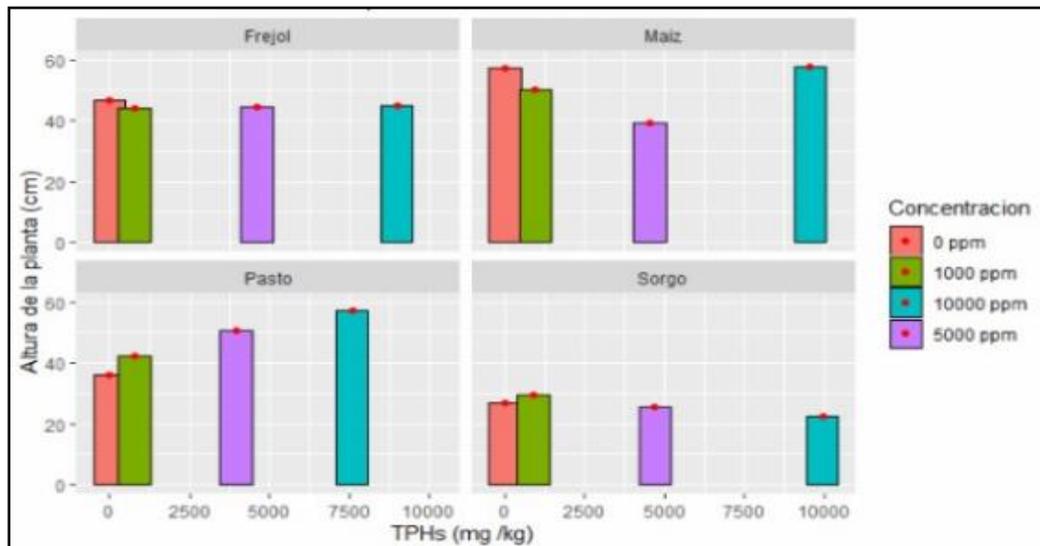


*Nota.*Medición de altura en cm a los 45 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 45 días transcurridos desde el inicio del ensayo experimental *Panicum máximo* jacq y *Phaseolus vulgaris* presentan mayor altura en la concentración 10000 ppm, en cambio en las *Zea Mays* y *Sorghum vulgare* sobresalen en el testigo.

Figura 28

Altura vs TPH a los 60 días.

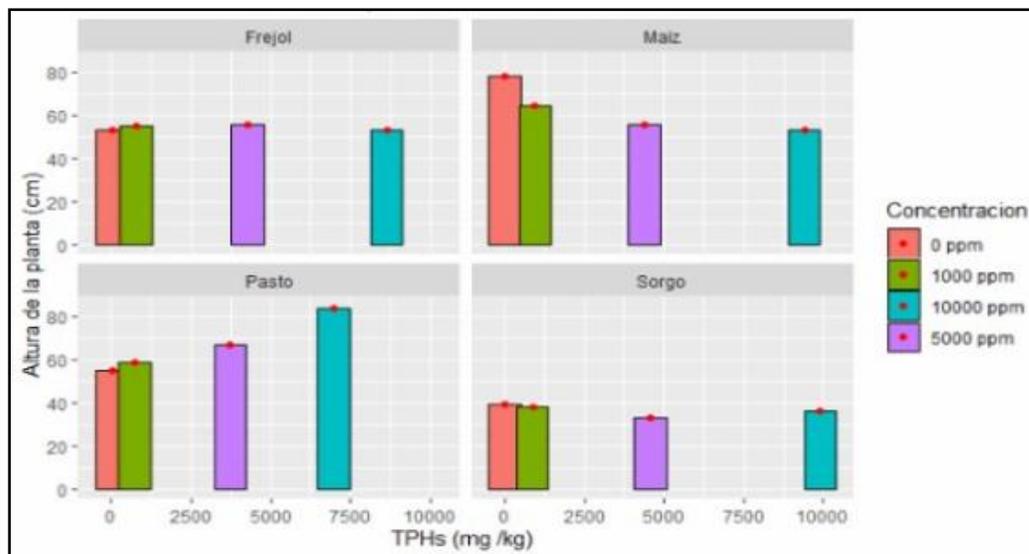


Nota. Medición de altura en cm a los 60 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Como se observa a los 60 días de crecimiento de las especies vegetales *Panicum máximo* jacq sigue alcanzando su mayor altura en la concentración 10000 ppm, por otra parte, *Phaseolus vulgaris* y *Zea Mays* sobresalen en el testigo y *Sorghum vulgare* tiene mejor desarrollo en 1000 ppm, sin embargo, a comparación de las otras especies, es la planta que tiene menor crecimiento.

Figura 29

Altura vs TPH a los 75 días.



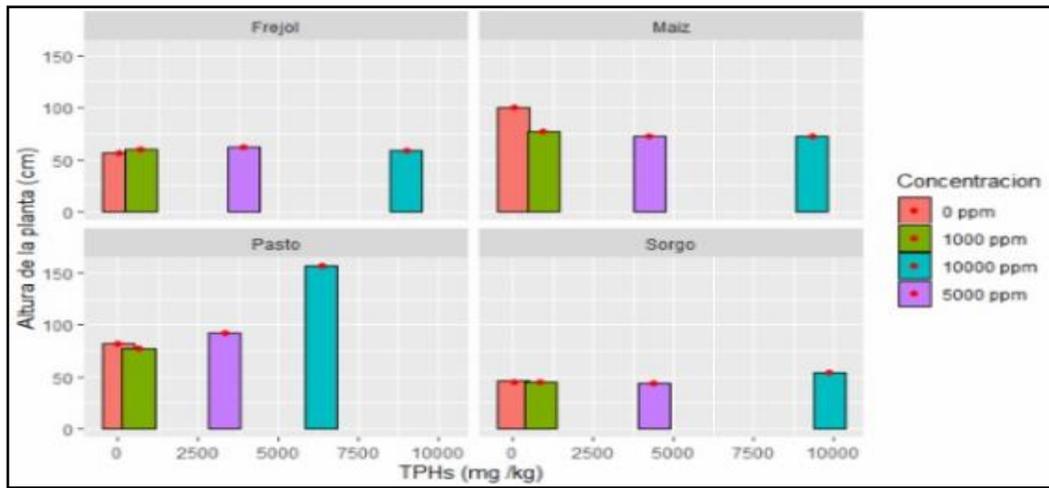
Nota. Medición de altura en cm a los 75 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 75 días de haber iniciado el estudio se puede apreciar significativamente que en todas las concentraciones existe una reducción de TPH, observando a su vez que dicha degradación es diferente según la especie vegetal.

La especie con mayor altura es *Panicum máximum* jacq en 10000 ppm, seguido de *Zea Mays* y *Sorghum vulgare* en el testigo, mientras que *Phaseolus vulgaris* incrementó su altura en la concentración 5000 ppm.

Figura 30

Altura vs TPH a los 90 días.

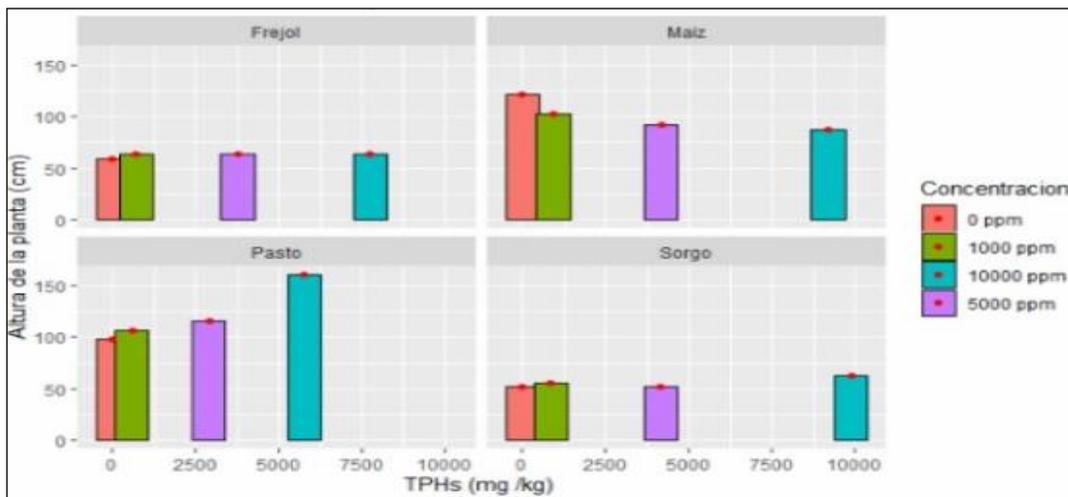


Nota. Medición de altura en cm a los 90 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 90 días se aprecia el incremento de la especie *Panicum máximo* jacq y *Sorghum vulgare* en la concentración 10000 ppm, *Zea Mays* en el testigo, mientras que *Phaseolus vulgaris* se mantiene su mayor altura en 5000 ppm. La especie *Sorghum vulgare* se mantiene por debajo de las demás plantas.

Figura 31

Altura vs TPH a los 105 días.

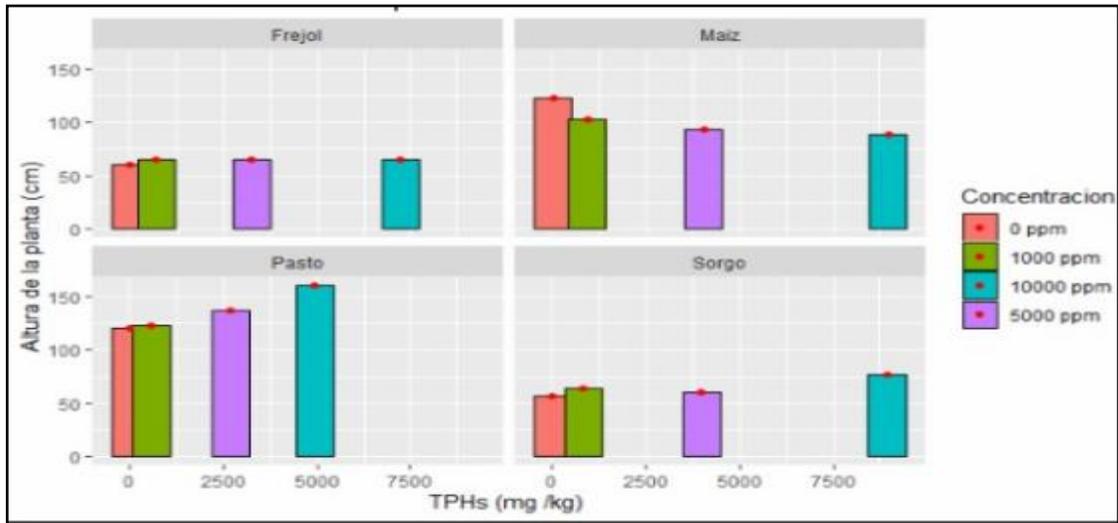


Nota. Medición de altura en cm a los 105 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Como se indica en la figura 31 ya se puede observar una notoria diferencia entre las especies con mayor altura, entre ellas están *Panicum máximum* jacq y seguido por *Zea Mays*, este comportamiento surge en las tres concentraciones y en el testigo.

Figura 32

Altura vs TPH a los 120 días.



Nota. Medición de altura en cm a los 120 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

La única especie que continuó con su crecimiento fue *Panicum máximum* jacq, ya que *Zea Mays* no presento incremento en su altura, debido a que como es una planta de ciclo corto ya cumplió con su desarrollo, sin embargo, fue la segunda mayor especie en alcanzar una mayor altura. Por otra parte, *Sorghum vulgare* y *Phaseolus vulgaris* fueron las especies con menor crecimiento.

En las figuras 25 a 32 contienen las ocho mediciones realizadas durante los cuatro meses de duración del experimento. Las figuras representan la relación de la altura de la planta vs los TPH (Los autores,2021).

Como se observa en las figuras, las ocho figuras indican que a medida que las especies vegetales van aumentando su altura, los TPH bajan independientemente de la concentración (1000,5000,10000) en la que se encuentran, coincidiendo con lo que dijo (Barcenas y Yáñez, 2012)

en su artículo pues manifiesta que se encontraron crecimientos similares de las especies en sus tratamientos mientras existía un descenso en los TPH.

(Nuñez et al., 2004) dicen que en un proceso de fitorremediación el crecimiento de la planta va a depender del grado de concentración en el que se encuentre el contaminante pues no todas toleran altos niveles, por esta razón se puede afirmar que la especie *Panicum máximum* jacq se desarrolló mayormente (altura, cm) a comparación de las demás sin tener influencia alguna en la cantidad de concentración en la que se encontraba, el mismo comportamiento tuvo *Phaseolus vulgaris* a diferencia de *Zea mays* que su crecimiento depende de la concentración en la que se encuentren.

Figura 33

Análisis de varianza de altura, TPH vs especie.

##		Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
##	especies	3	31937	10646	76.865	3.07e-06	***
##	tphss	40	15948	399	2.879	0.0585	.
##	Residuals	8	1108	138			

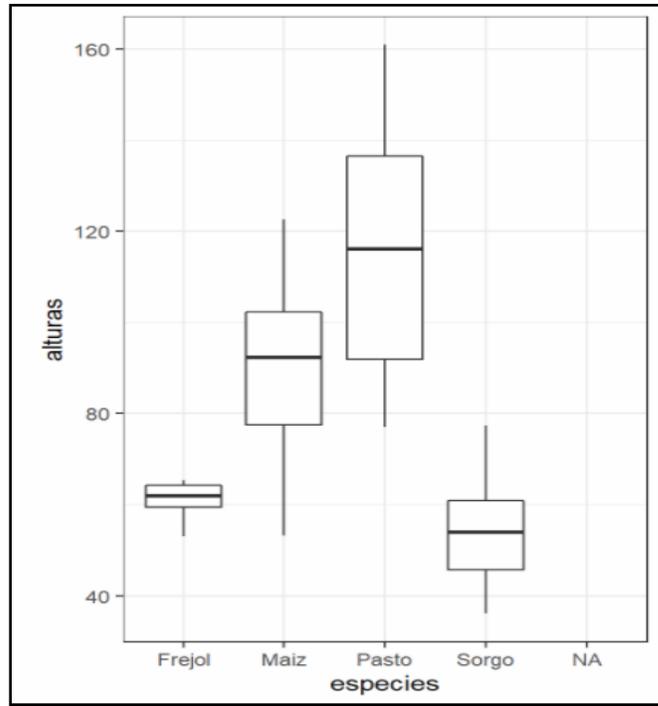
Nota. (Los autores, 2021).

En la figura 33 se observa un resultado p-valor de 0.0585 el cual es mayor a 0.05 lo que quiere decir que el valor de la diferencia de las medias de TPH no tiene significancia, por lo que no se puede asegurar que la altura de las especies infiere en la reducción de TPH. Este resultado coincide con el de (Castillo y Pérez , 2006) quienes manifiestan que existe plantas como por ejemplo la del tabaco que se desarrollan en suelos con hidrocarburo, pero no muestran remoción del contaminante.

Por lo tanto, con un p-valor de 3.07e-06 el cual es menor a 0.05 lo que quiere decir que existe significancia entre las medias de las especies, deduciendo que el aumento de la altura de la planta va a depender del tipo de especie vegetal.

Figura 34

Altura vs especies.



Nota. la figura 34 representa la especie que alcanzó la mayor altura dentro del ensayo experimental. (Los autores, 2021).

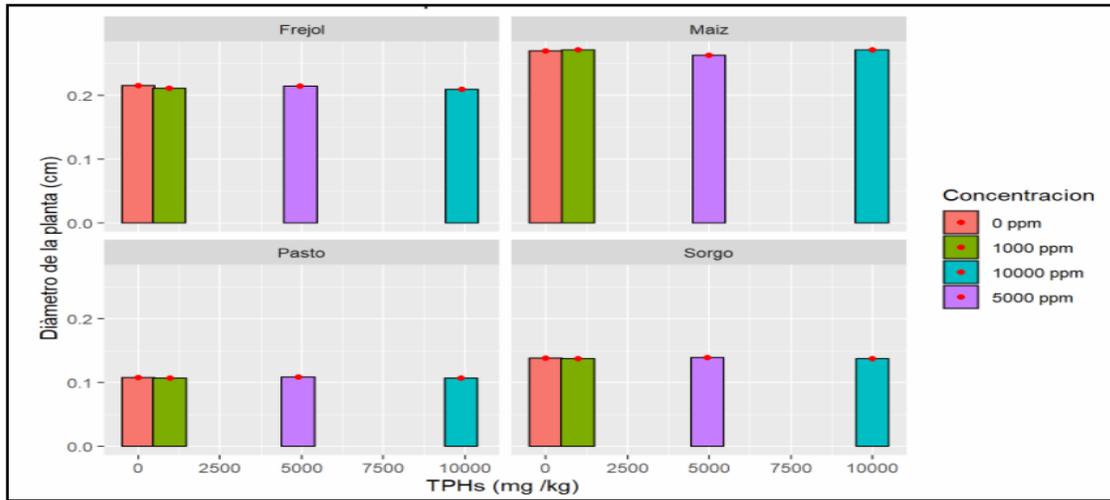
Como se aprecia en la gráfica la especie que alcanzó la mayor altura fue *Panicum máximum* jacq, seguido por *Zea mays*, *Phaseolus vulgaris* y finalmente *Sorghum vulgare* que tuvo el valor más bajo dentro del ensayo experimental.

Concluyendo en base a (Fernandez y Leyter, 2006) los cuales manifiestan que el crecimiento de una especie vegetal en un suelo contaminado va a acorde al cumplimiento de su ciclo de vida y no necesariamente a la absorción del contaminante.

4.3.1.2. Diámetro de la planta

Figura 35

Diámetro vs TPH a los 15 días.

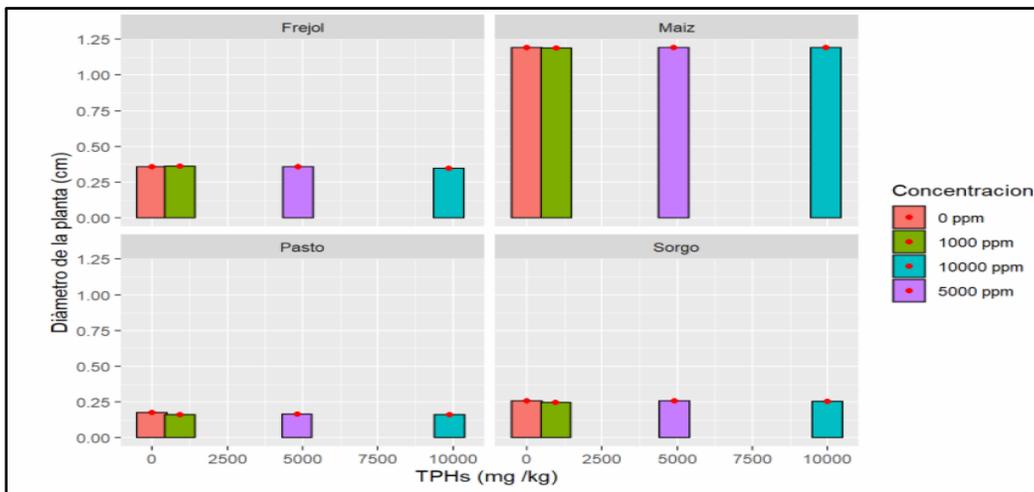


Nota. Medición de diámetro en cm a los 15 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Dentro de los primeros 15 días de crecimiento de las especies vegetales *Zea mays* es la planta con mayor diámetro a comparación del resto de especies, esto se da en todas las concentraciones incluido el testigo.

Figura 36

Diámetro vs TPH a los 30 días.

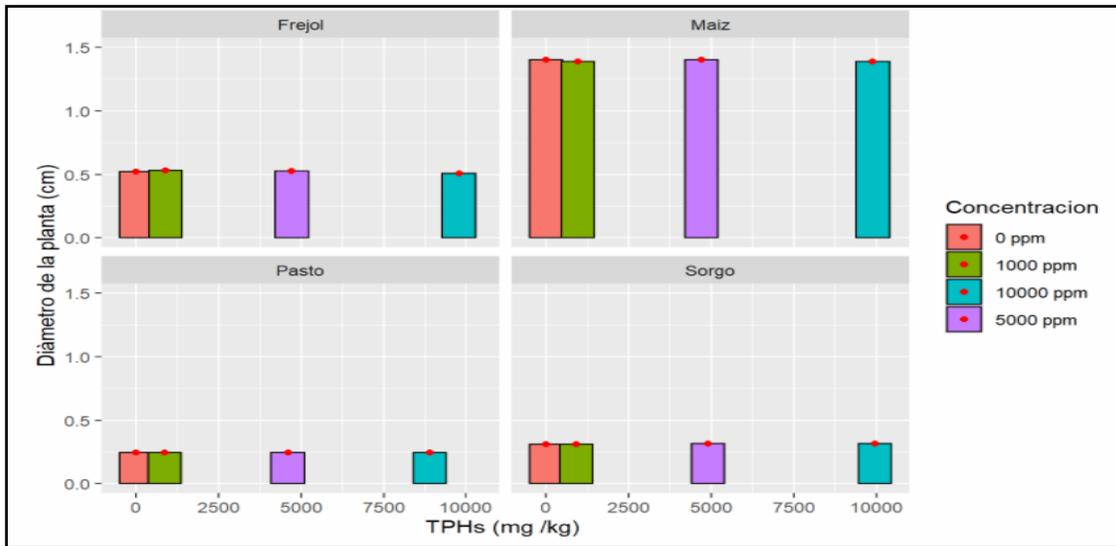


Nota. Medición de diámetro en cm a los 30 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Se aprecia que a los 30 días el diámetro del tallo de *Zea mays* tiene una medida de 1 a 1.2 cm siendo la especie que sobresale y *Panicum máximum* jacq posee el menor valor a comparación de las otras especies, esto se presenta en todas las concentraciones.

Figura 37

Diámetro vs TPH a los 45 días.

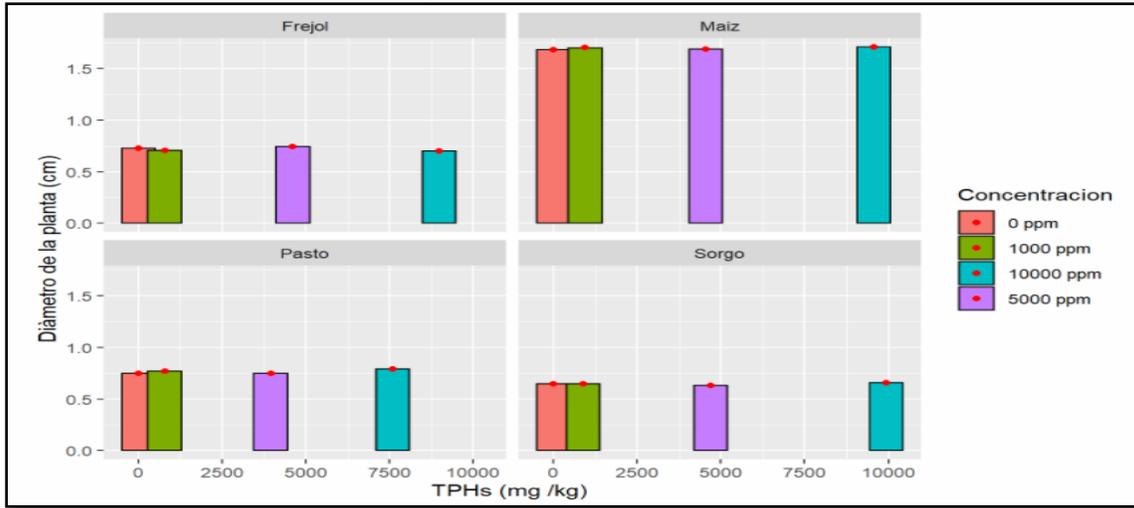


Nota. Medición de diámetro en cm a los 45 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Se observa que *Phaseolus vulgaris* tuvo mayor crecimiento a comparación de los días anteriores, sin embargo, *Zea mays* sigue siendo la especie con mayor diámetro en su tallo. Este comportamiento se presenta en todas las concentraciones.

Figura 38

Diámetro vs TPH a los 60 días.

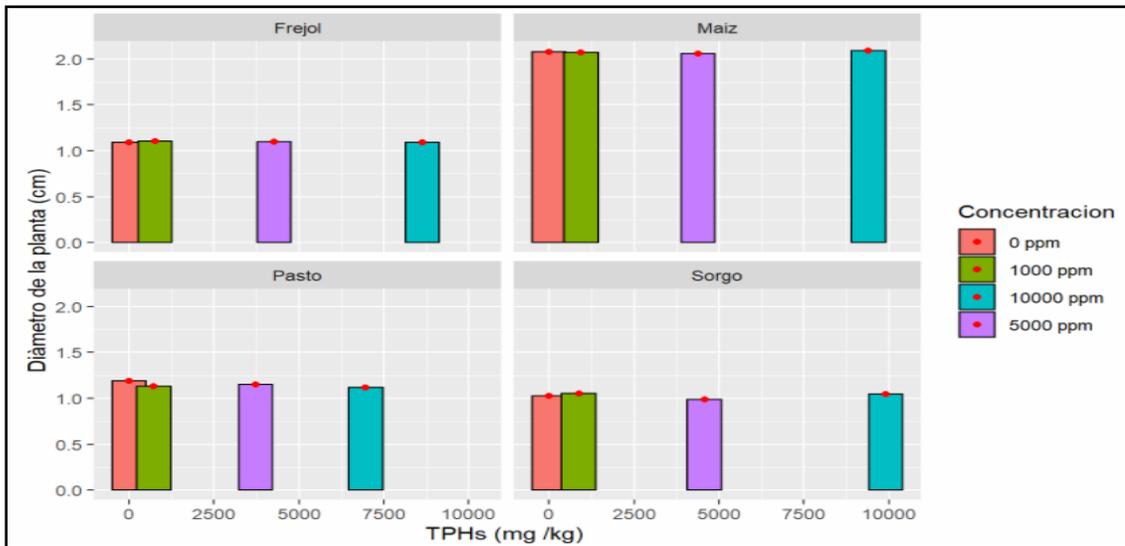


Nota. Medición de diámetro en cm a los 60 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

La especie *Panicum máximum* jacq a los 60 días presenta un incremento, superando a *Sorghum vulgare*. Sin presentar cambio *Zea mays* continúa siendo la especie que sobresale a comparación de las demás.

Figura 39

Diámetro vs TPH a los 75 días.

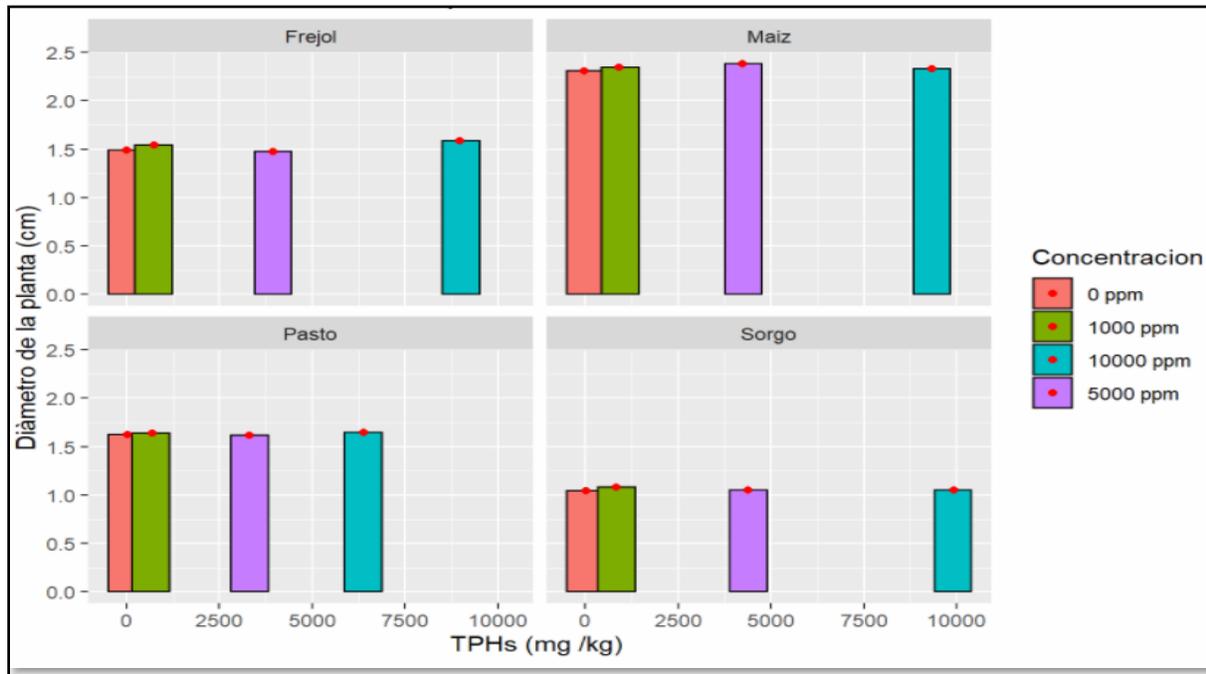


Nota. Medición de diámetro en cm a los 75 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Zea mays destaca como la especie con mayor diámetro de su tallo con valores entre 2 a 2.1 cm. Las especies *Phaseolus vulgaris*, *Sorghum vulgare* y *Panicum máximum* jacq se mantienen en un rango de 1 a 1.2 cm.

Figura 40

Diámetro vs TPH a los 90 días.

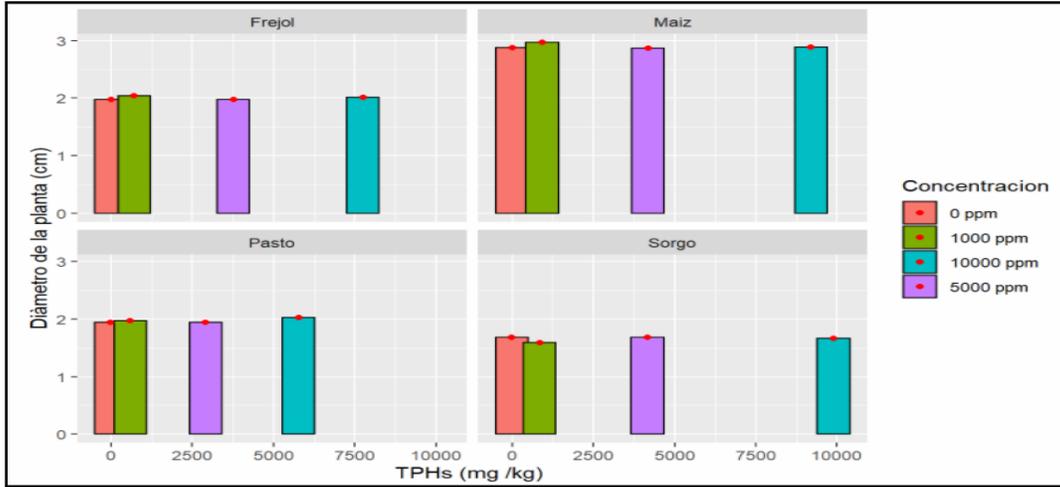


Nota. Medición de diámetro en cm a los 90 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Transcurrido 90 días *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq tienen valores similares de diámetro en un rango de 1.3 a 1.7 cm, *Sorghum vulgare* en todas sus concentraciones posee un diámetro de 1.10 cm y por ende *Zea mays* sigue siendo la especie que sobresale con 2.3 cm de diámetro.

Figura 41

Diámetro vs TPH a los 105 días.

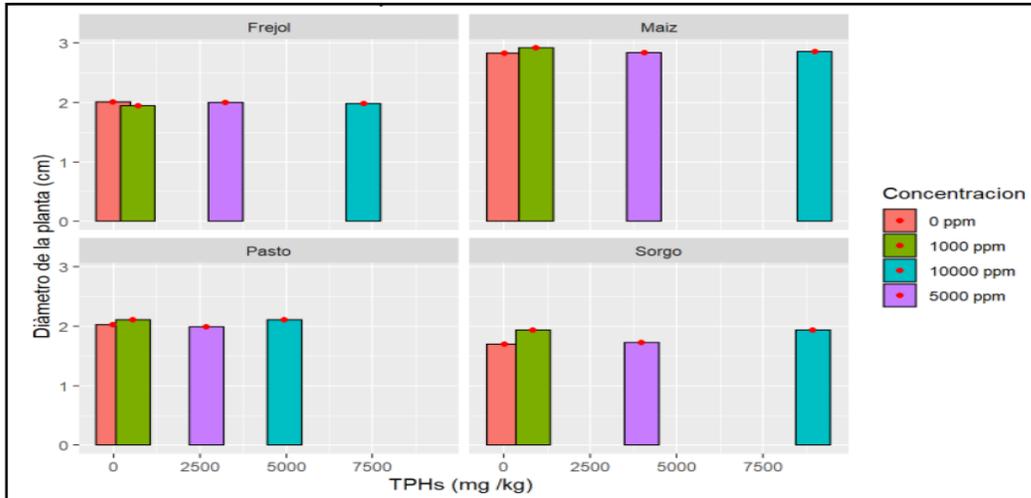


Nota. Medición de diámetro en cm a los 105 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 105 días *Sorghum vulgare* alcanzó un crecimiento de 1.6 a 1.7 cm siendo la especie con un diámetro más bajo, *Zea mays* en todas sus concentraciones presentó valores entre 2.7 a 2.9 cm y por otro lado *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq se mantienen en un mismo rango de crecimiento.

Figura 42

Diámetro vs TPH a los 120 días.



Nota. Medición de diámetro a los 120 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

En la última medición de datos se aprecia que *Zea mays* es la especie que sobresale ante las demás especies. *Sorghum vulgare*, *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum jacq* se mantiene en valores parecidos a la fig.41.

De la figura 35 a la 42 contienen las ocho mediciones realizadas durante los cuatro meses de duración del experimento. Las figuras representan la relación del diámetro de la planta vs los TPH (Los autores,2021).

Las representaciones gráficas indican que existe una relación inversamente proporcional entre el diámetro y los TPH ya que a medida que el diámetro aumenta los TPH disminuyen independientemente de la especie vegetal y la concentración (1000,5000,10000) en la que se encuentran. Comportamiento similar menciona (Munive y Figueroa, 2018) en su artículo donde determinan el crecimiento progresivo del diámetro del tallo mientras existía un descenso del contaminante, de igual manera (Bernal y Clemente, 2007) manifiestan que el grosor del tallo de sus especies vegetales crece a medida que disminuye el contaminante.

Figura 43

Análisis de varianza de diámetro, TPH vs especie.

##		Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
##	Especie	3	6.77	2.2582	3.891	0.0107 *
##	TPHs	1	0.44	0.4370	0.753	0.3872
##	Residuals	123	71.38	0.5804		

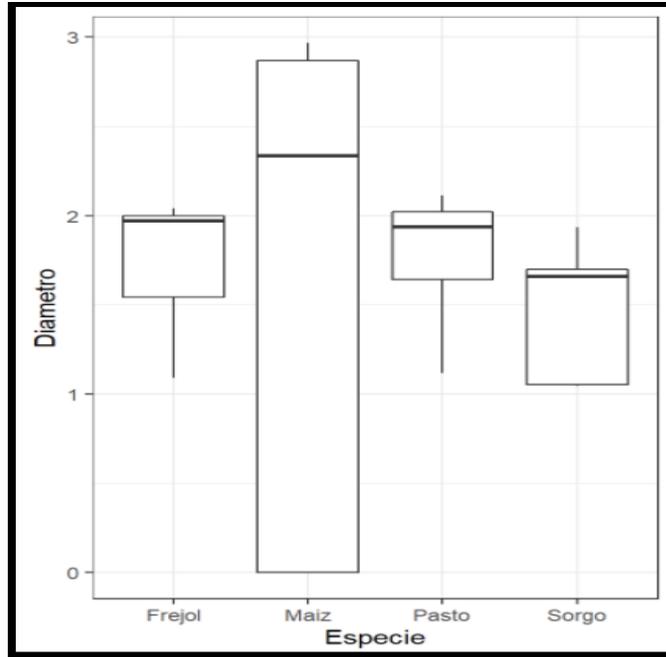
Nota. (Los autores, 2021).

Con un p-valor de 0.3872 (fig.43) el cual es mayor a 0.05 determinando que el valor de la diferencia entre las medias de TPH no tiene significancia, por lo que no se puede asegurar que el diámetro de las especies infiere en la reducción de TPH. Coincidiendo con (Perez y Guerra, 2008) quienes manifiestan que si bien el tallo es una parte de la planta donde se acumula el contaminante no por eso quiere decir que el grosor del tallo de la especie va a ser más ancho.

Se puede inferir que con un p-valor de 0.0107 (fig.43) el cual es menor a 0.05 determinando que existe significancia entre las medias de las especies, deduciendo que el incremento del diámetro de la planta va a depender del tipo de especie vegetal.

Figura 44

Diámetro vs especies



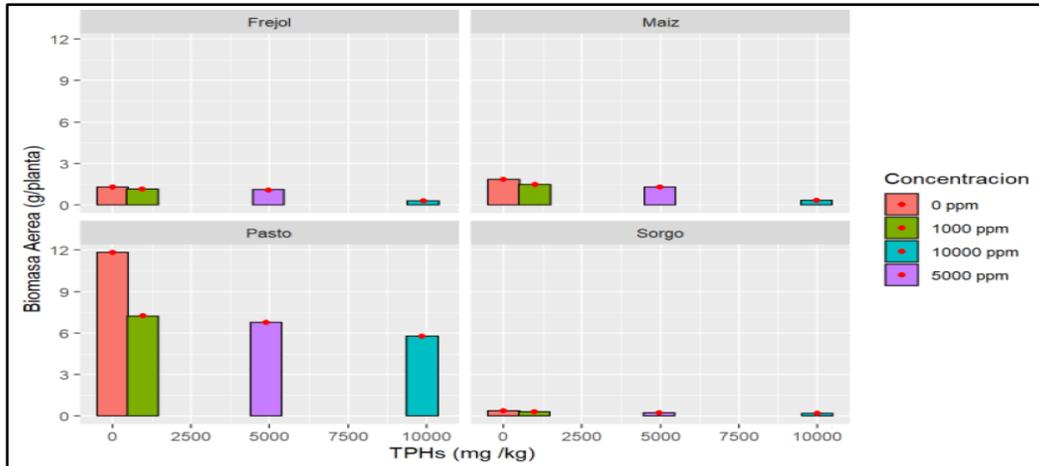
Nota. la figura representa la especie que alcanzó el mayor diámetro dentro del ensayo experimental (Los autores, 2021).

Como se aprecia en el gráfico *Zea mays* es la especie que obtuvo un mayor diámetro, seguido por *Panicum máximum* jacq, *Phaseolus vulgaris* y finalmente *Sorghum vulgare*. Esta tendencia aplica para todas las concentraciones. Como se mencionó anteriormente el diámetro depende de la especie vegetal y según (Ortigoza et al., 2019) el diámetro del tallo del maíz va de 3 a 4 cm por lo que va a ser superior a las otras plantas utilizadas en el ensayo experimental.

4.3.1.3. Biomasa aérea.

Figura 45

Biomasa aérea vs TPH a los 15 días.

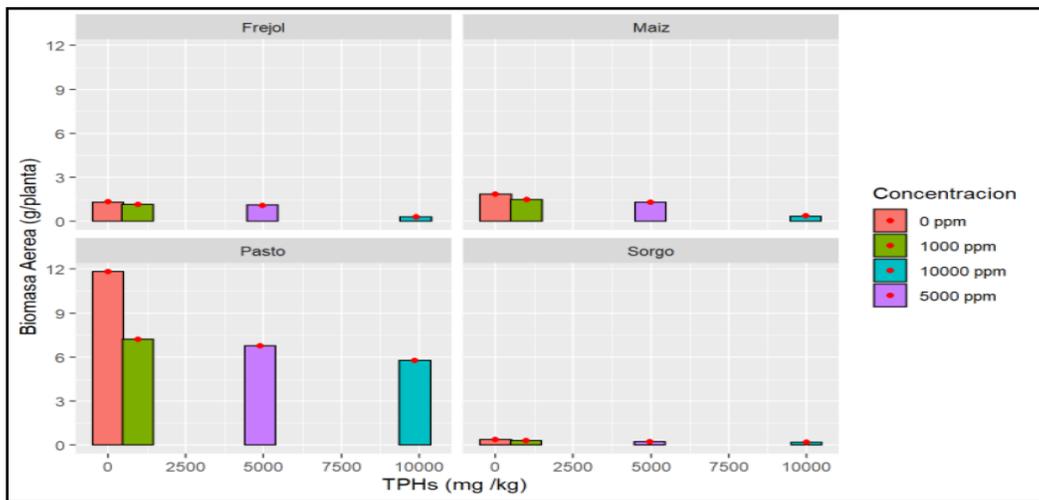


Nota. Medición de biomasa aérea a los 15 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Como se aprecia en la fig. 45 la especie *Panicum máximum* jacq es la que alcanza la mayor biomasa aérea a comparación de las otras plantas estudiadas, sin embargo, en 0 ppm (blanco) la biomasa de dicha especie es de 12 g/planta a diferencia de las concentraciones 1000,5000 y 1000 ppm que tienen de 6 a 7 g/ planta. *Sorghum vulgare* es la planta con menor biomasa aérea en comparación a las demás especies.

Figura 46

Biomasa aérea vs TPH a los 30 días.

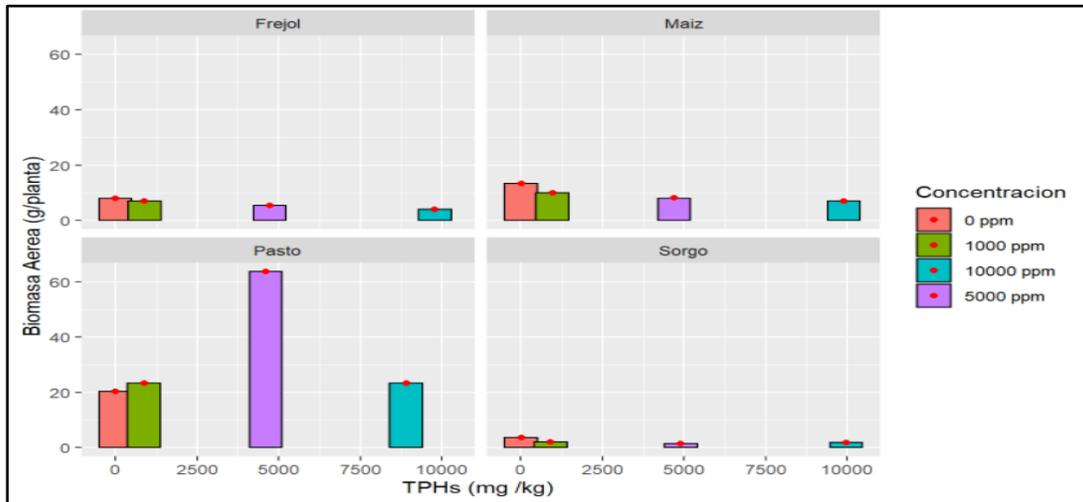


Nota. Medición de biomasa aérea a los 30 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 30 días del estudio, se presenta la misma tendencia que en la figura 45 respecto a la especie *Panicum máximo* jacq, la misma que va aumentando su biomasa aérea, se observa que *Zea mays* es la segunda planta que posee mayor cantidad de biomasa.

Figura 47

Biomasa aérea vs TPH a los 45 días.

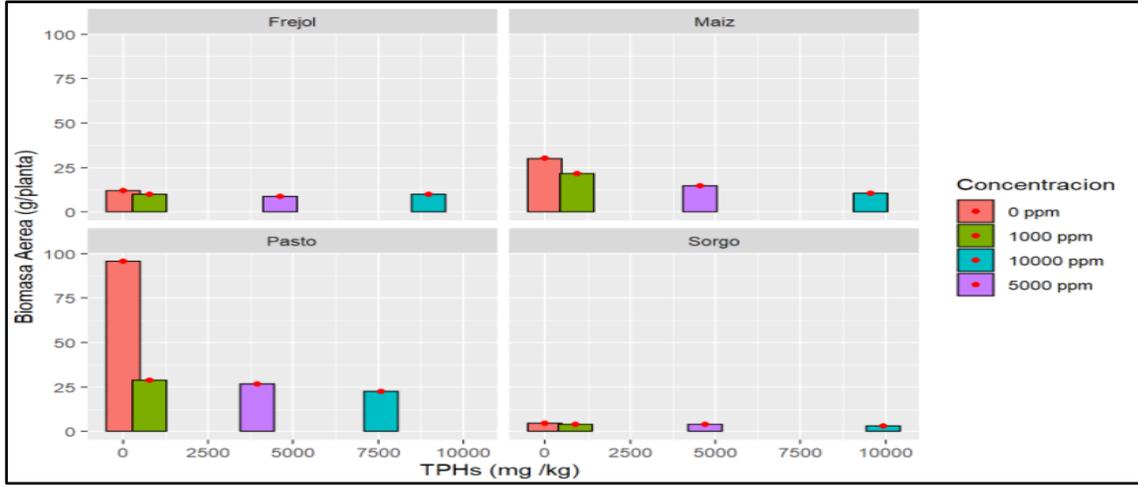


Nota. Medición de biomasa aérea a los 45 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Se indica en la fig. 47 que en la concentración 5000 ppm *Panicum máximo* jacq aumenta su biomasa aérea significativamente a comparación de las demás concentraciones, la especie *Sorghum vulgare* es la que menos biomasa presenta tanto en el testigo como en el suelo contaminado. *Zea mays* se mantiene como la segunda planta con mayor biomasa aérea.

Figura 48

Biomasa aérea vs TPH a los 60 días.

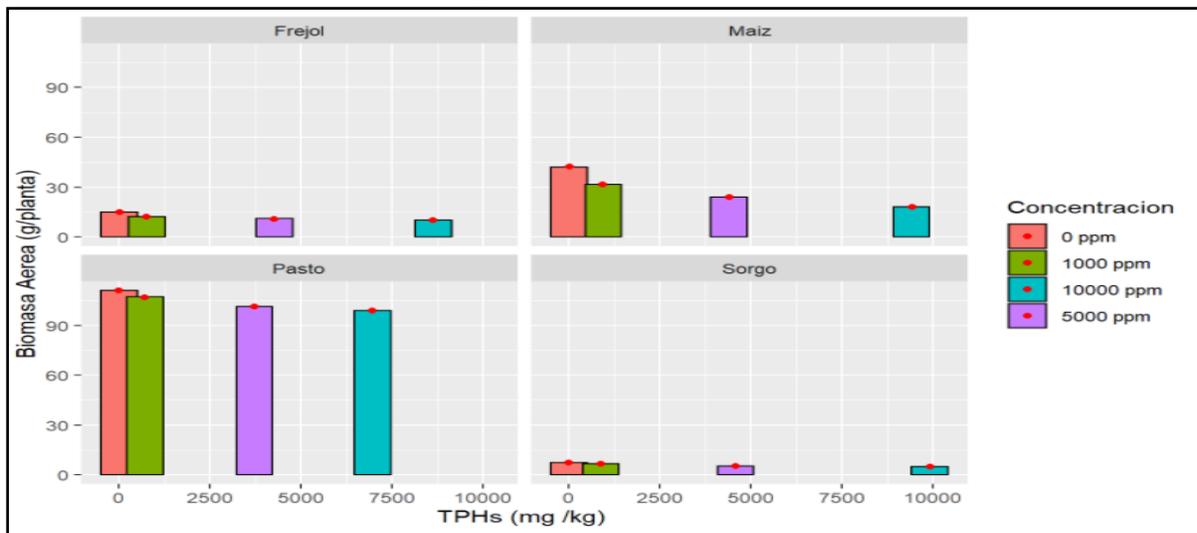


Nota. Medición de biomasa aérea a los 60 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 60 días como se aprecia en la figura la concentración 0 (testigo) presenta mayor cantidad de biomasa aérea en la especie *Panicum máximum* jacq a comparación de 1000, 50000 y 10000 ppm, *Sorghum vulgare* y *Phaseolus vulgaris* presentan valores similares. *Zea Mays* es la segunda mayor especie con biomasa aérea.

Figura 49

Biomasa aérea vs TPH a los 75 días.

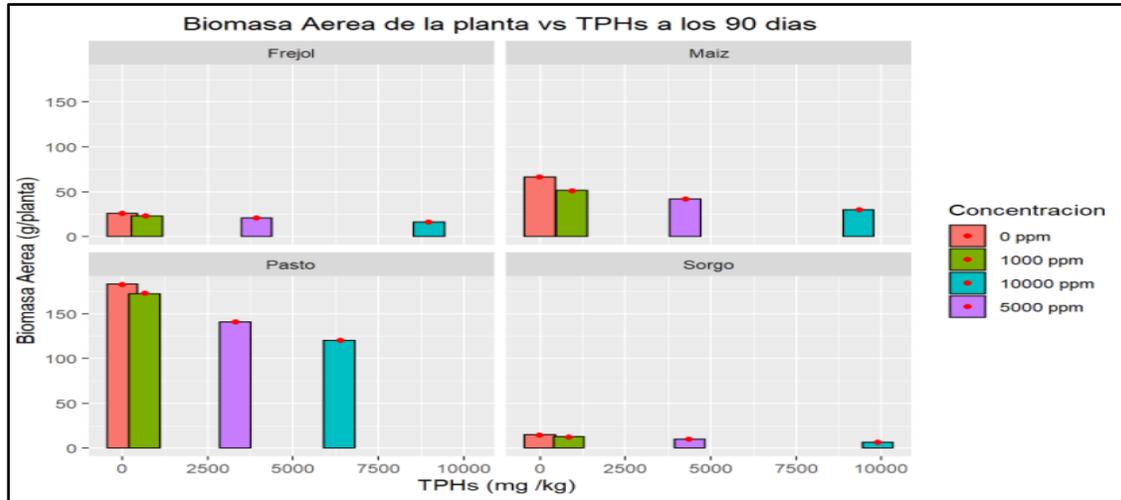


Nota. Medición de biomasa aérea a los 75 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Al igual que las anteriores gráficas *Panicum máximo* jacq representa la especie con mayor cantidad de biomasa, cabe mencionar que *Zea Mays* incrementó hasta más de 30 g/planta a comparación de la fig. 48 que poseía un valor menor a 25g planta.

Figura 50

Biomasa aérea vs TPH a los 90 días.

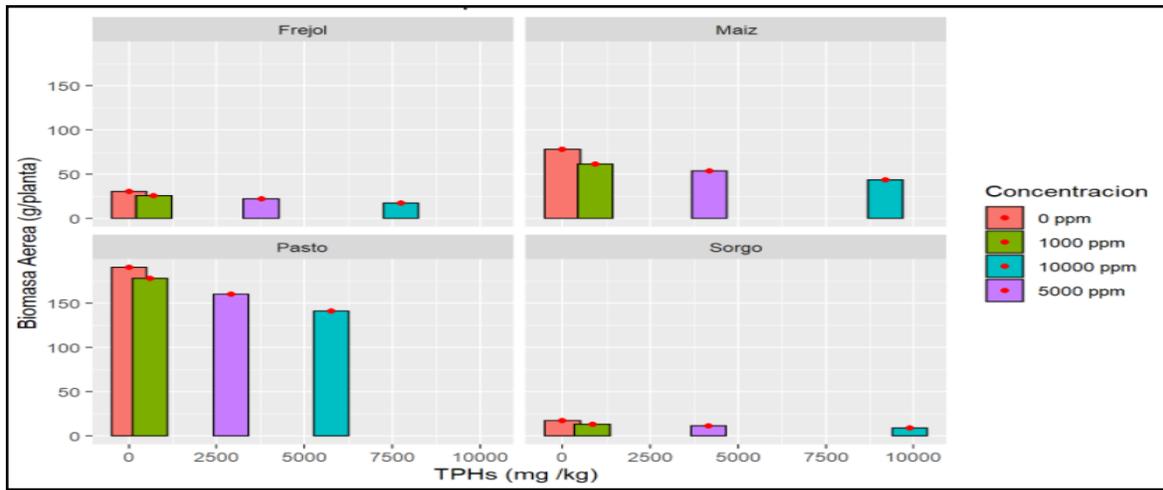


Nota. Medición de biomasa aérea a los 90 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Al transcurso de 90 días se sigue presentando la misma tendencia con respecto a *Panicum máximo* jacq, la misma que sobresale con mayor cantidad de biomasa ante las otras especies vegetales, mencionando que en el blanco su valor aumenta en una mínima diferencia con respecto a las otras concentraciones.

Figura 51

Biomasa aérea vs TPH a los 105 días.

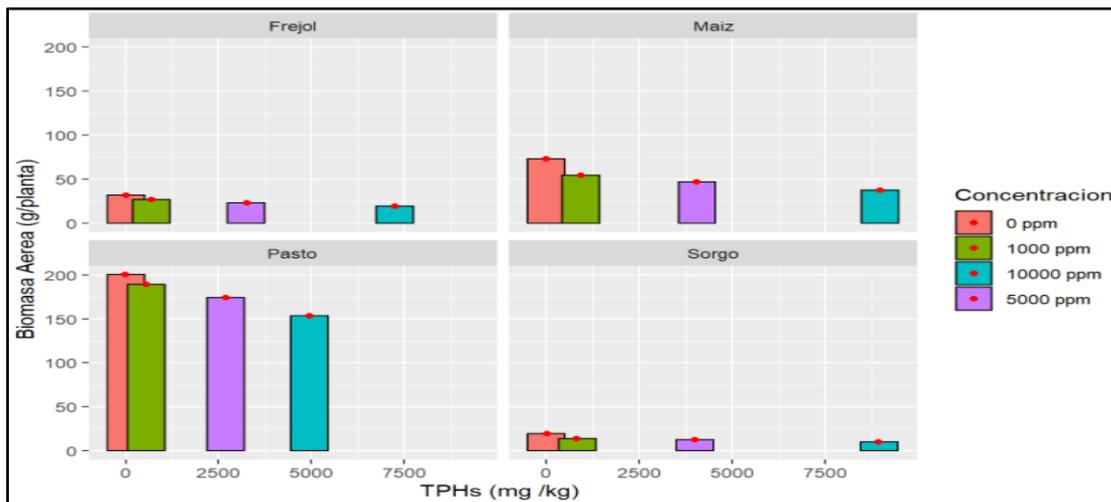


Nota. Medición de biomasa aérea a los 105 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Como se ha observado en las anteriores figuras la especie *Sorghum vulgare* tuvo una biomasa aérea relativamente baja dentro de un rango de 10 a 25 g/planta, esto se presentó en todas las concentraciones a excepción del testigo que tuvo un incremento mínimo, por otra parte, *Panicum máximum* jacq y *Zea Mays* son las especies con mayor valor de biomasa respectivamente.

Figura 52

Biomasa aérea vs TPH a los 120 días.



Nota. Medición de biomasa aérea a los 120 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Transcurrido los 120 días de duración del ensayo experimental se denota que la especie *Panicum máximum* jacq, es la que presentó mayor cantidad de biomasa aérea, esto se evidenció en todas figuras anteriores, el testigo fue el que mayor resultado obtuvo independientemente de la especie evaluada.

De la fig.45 a 52 representan las ocho mediciones realizadas durante los cuatro meses de duración del experimento. Las figuras representan la relación de la biomasa aérea vs los TPH (Los autores,2021).

(Arias y Rivera, 2016) muestran en sus resultados como la biomasa aérea crece a medida que reducen los TPH en las siete concentraciones que realizaron su estudio, por lo que se infiere que las figuras siguen un comportamiento inversamente proporcional, es decir que mientras la biomasa aérea aumenta los TPH bajan, esta tendencia ocurre dentro de todas las concentraciones (1000,5000,10000).

La cantidad de biomasa aérea de cada especie depende de la concentración en la que se encuentren, por esa razón 0ppm (testigo)presenta superior biomasa, esto se observa en la fig.30 en donde la concentración 1000 ppm es la que presenta mayores valores, seguido por 5000ppm y 10000 ppm respectivamente. La misma tendencia manifiesta (Barcenás y Yáñez, 2012) que determina que en los tratamientos con mayor concentración existió un bajo valor de biomasa aérea a diferencia de los que tenían una menor concentración, de igual manera (Jara y Gómez, 2014) dice que la mayor tasa de biomasa fue obtenida en el tratamiento control.

Figura 53

Análisis de varianza de biomasa aérea, TPH vs especie.

##		Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
##	Especie	3	133643	44548	32.697	1.3e-15	***
##	TPHs	1	8021	8021	5.887	0.0167	*
##	Residuals	123	167581	1362			

Nota. (Los autores, 2021).

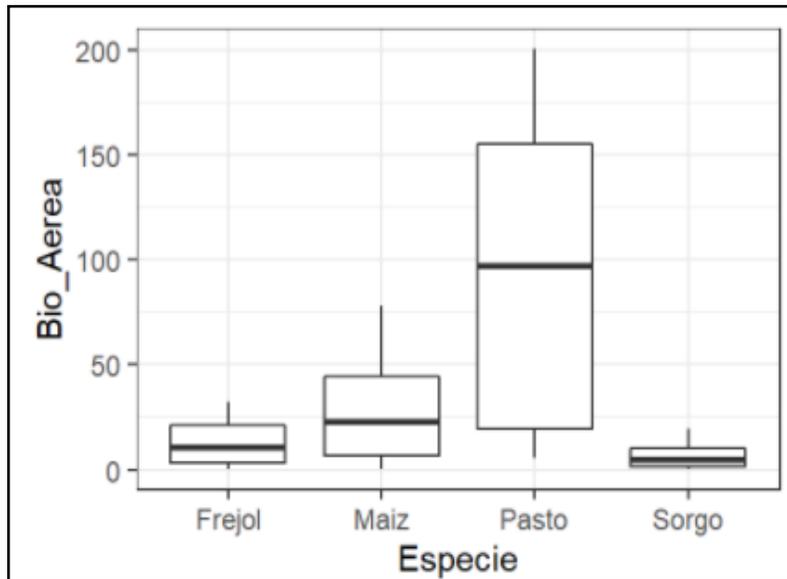
Como se muestra en la fig.53 con un p-valor de 0.0167 el cual es menor a 0.05 se determina que el valor de la diferencia entre las medias de TPH tiene significancia, por lo que se puede presumir que la biomasa aérea de las especies influye en la reducción de TPH. (Clemente y Bernal, 2007) señalan en su publicación que si bien parte del crudo se aloja en la biomasa aérea de la planta (tallos, hojas), la cantidad de la misma no determina la reducción del contaminante.

Por otro lado (Sangabriel et al., 2006) determinan que la especie *Phaseolus coccineus* presentó mayor biomasa en comparación a las otras plantas sin embargo la reducción del combustible fueron bajas. (Cándido, 2013) Dice que una de las razones por la que las especies pierdan parte de su biomasa aérea es por el hecho que el contaminante se acumula en sus hojas y tallos, tornándose de apariencia amarillenta y van desprendiéndose de la planta.

Se puede interpretar que con un p-valor de 1.3e-15 (fig.53) el cual es menor a 0.05 determinando que existe significancia entre las medias de las especies, deduciendo que el incremento o cantidad de la biomasa aérea de la planta va a depender del tipo de especie vegetal.

Figura 54

Biomasa aérea vs especie.



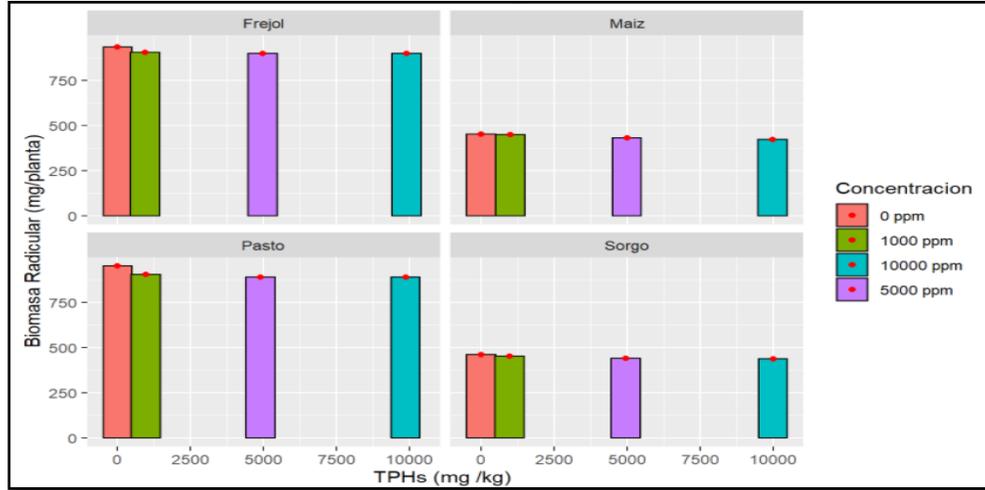
Nota. la figura representa la especie que alcanzó la mayor biomasa aérea dentro del ensayo experimental (Los autores, 2021).

Como se aprecia en la fig. 54 la especie con mayor biomasa aérea dentro del ensayo experimental es *Panicum máximo* jacq, seguido por *Zea mays* , *Phaseolus vulgaris* y *Sorghum vulgare* que presenta el valor más bajo. Dado que la cantidad de biomasa aérea depende de la especie como se explicaba anteriormente, estos resultados tienen concordancia tanto con la altura como el N.º de Hojas de cada planta.

4.3.1.4. Biomasa radicular.

Figura 55

Biomasa radicular vs TPH a los 15 días.

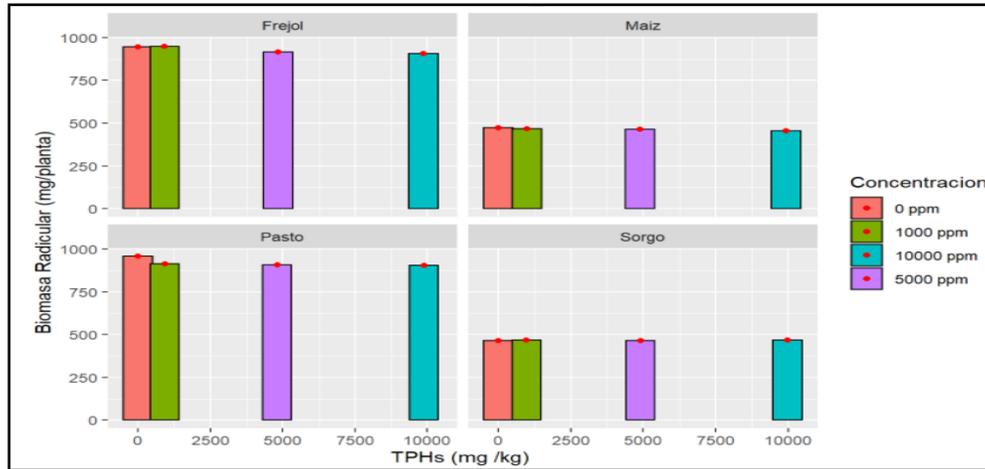


Nota. Medición de biomasa radicular a los 15 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Se aprecia que a los 15 días las especies *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq son las que presentan mayor cantidad de biomasa en todas las concentraciones, sin embargo, el testigo 0 ppm es el que mayor biomasa posee antes los suelos con hidrocarburos.

Figura 56

Biomasa radicular vs TPH a los 30 días.

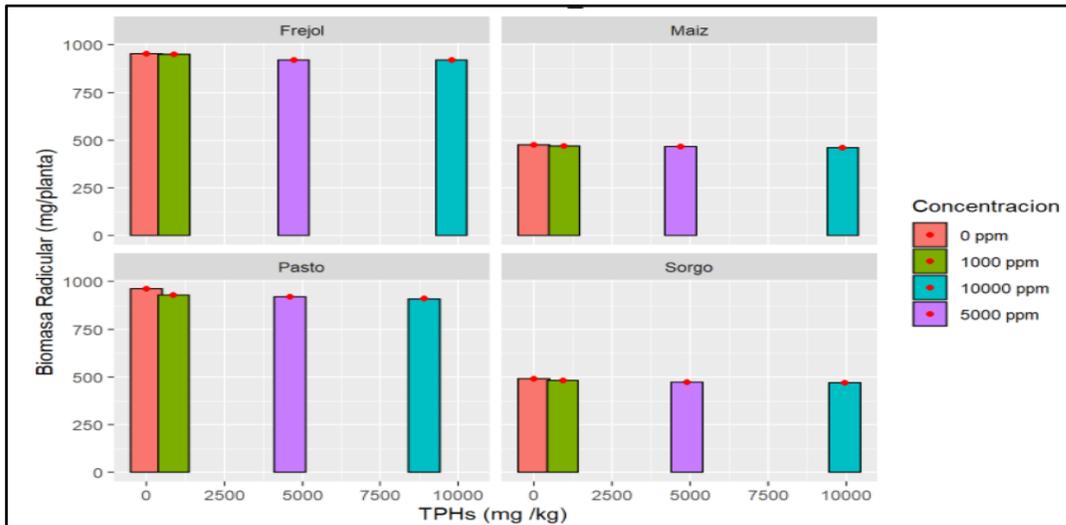


Nota. Medición de biomasa radicular a los 30 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Panicum máximum jacq es la especie con mayor biomasa radicular, especialmente en el blanco. *Phaseolus vulgaris* en sus cuatro concentraciones incluido el testigo presentan valores similares de biomasa, por otro lado, *Zea mays* y *Sorghum vulgare* registran valores bajos a comparación de las otras dos especies vegetales.

Figura 57

Biomasa radicular vs TPH a los 45 días.

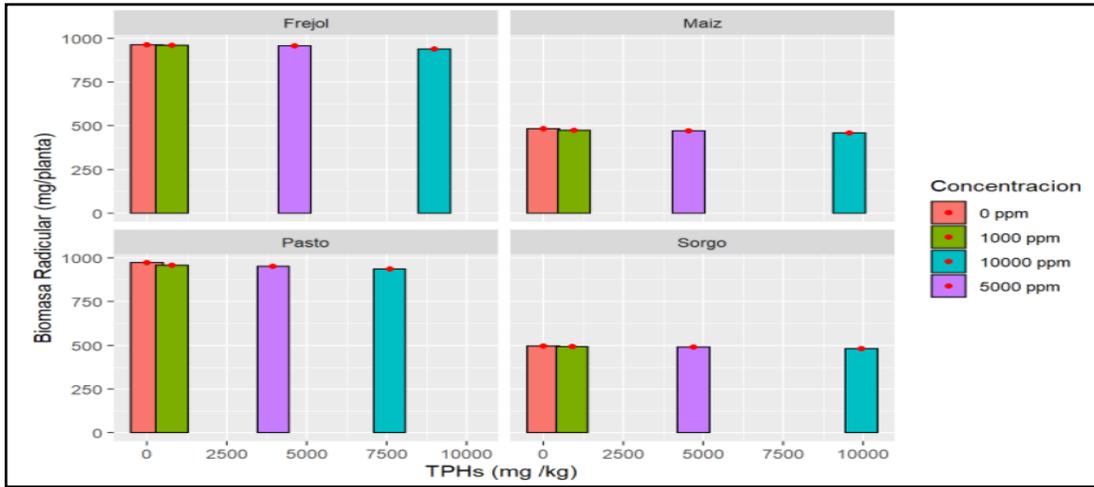


Nota. Medición de biomasa radicular a los 45 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Al igual que la figura 56 *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq son las especies que presentan valores mayores de biomasa en todas las concentraciones, se denota que *Sorghum vulgare* sobresale mínimamente ante *Zea mays*. El testigo en todas sus especies incrementa sus valores a comparación del resto de concentraciones.

Figura 58

Biomasa radicular vs TPH a los 60 días.

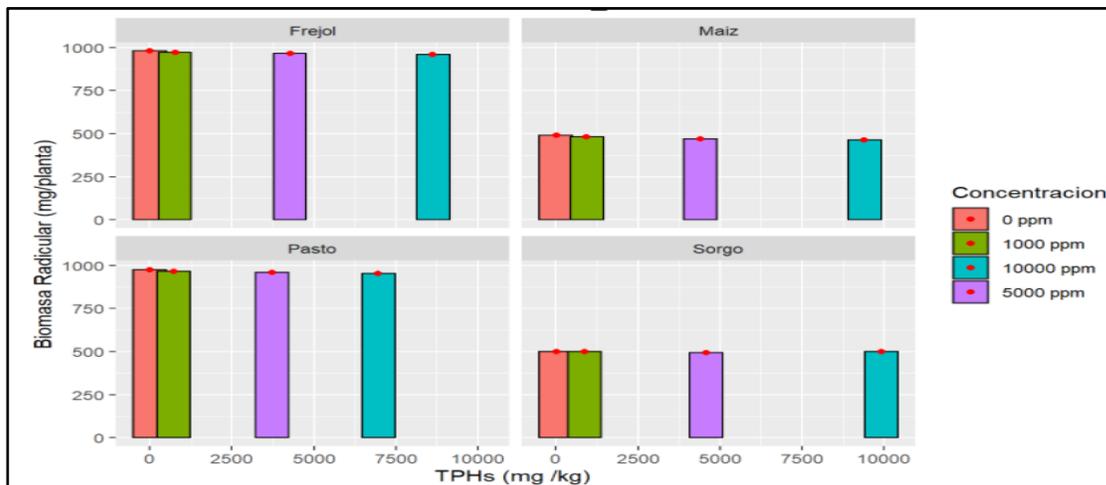


Nota. Medición de biomasa radicular a los 60 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Phaseolus vulgaris y *Panicum máximum* jacq en las concentraciones 1000, 5000 y 10000 ppm se encuentran con valores entre 900 a 1000 mg/planta, las mismas especies en 0ppm alcanzan los 1000 mg/planta. Se observa que *Sorghum vulgare* sobresale con una diferencia mínima ante *Zea mays* en todas las concentraciones.

Figura 59

Biomasa radicular vs TPH a los 75 días.

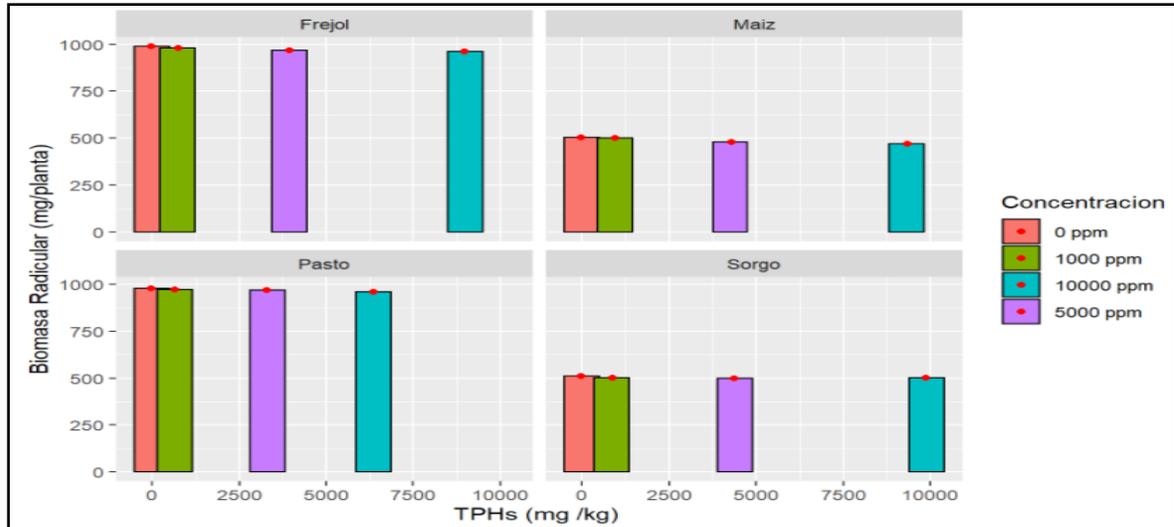


Nota. Medición de biomasa radicular a los 75 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Se presenta la misma tendencia que en las figuras anteriores, en donde las especies *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq destacan sobre las otras dos plantas, no existió un gran incremento de sus valores de biomasa en todas las especies y concentraciones.

Figura 60

Biomasa radicular vs TPH a los 90 días.

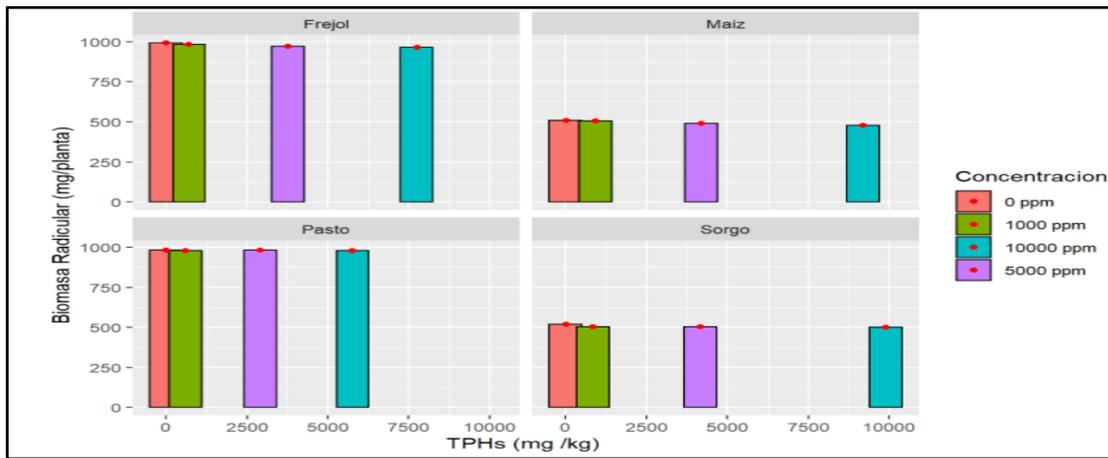


Nota. Medición de biomasa radicular a los 90 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Sorghum vulgare y *Zea mays* a los 90 días del estudio incrementaron mínimamente sus valores, no existen cambios en el incremento de biomasa radicular en *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq, sin embargo, siguen siendo las especies con mayor biomasa radicular en todas sus concentraciones.

Figura 61

Biomasa radicular vs TPH a los 105 días.

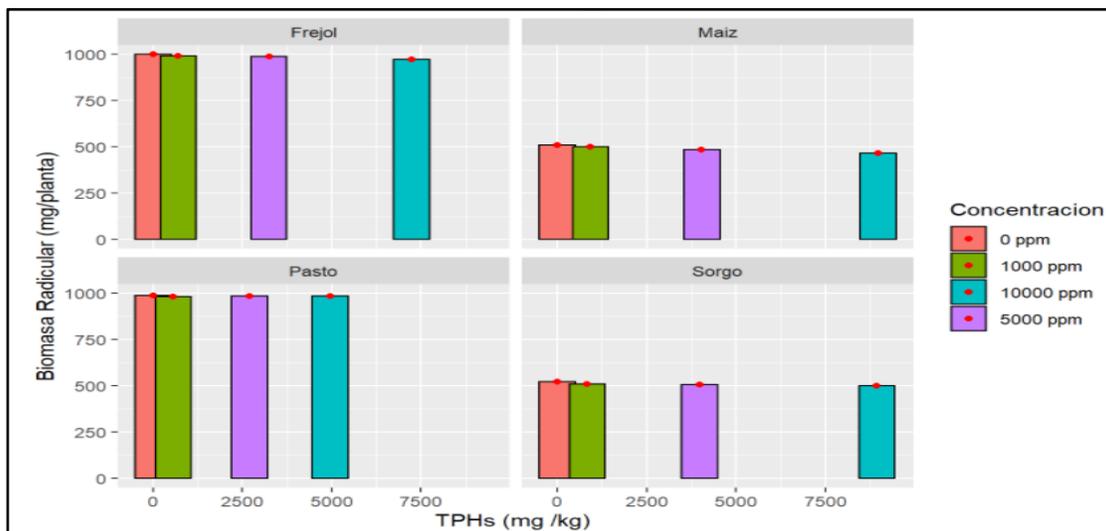


Nota. Medición de biomasa radicular a los 105 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 105 días del ensayo experimental no se presenta mayor cambio en sus valores de biomasa radicular en todas las concentraciones y especies, ya que las que siguen predominando son *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq.

Figura 62

Biomasa radicular vs TPH a los 120 días.



Nota. Medición de biomasa radicular a los 120 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Al término de la investigación, transcurrido los 120 días y sin presentar mayores cambios durante las ocho mediciones, se determinó que las especies que presentaron mayor biomasa radicular fueron *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum jacq* en todas las concentraciones, excepto en el testigo que las mismas especies antes nombradas presentaron mayores valores en comparación a los suelos con hidrocarburo.

Las figuras muestran como a medida que el TPH desciende la biomasa radicular incrementa independientemente de la especie y concentración en la que se encuentre, de igual manera sucede con la relación biomasa vs TPH presentada por (Arias y Rivera, 2016) donde demuestran que sus plantas que siguen la misma tendencia.

(Barcenás y Yáñez, 2012) menciona que las especies *Tessaria integrifolia* y *Verbena litoralis* desarrollaron su biomasa en todas sus concentraciones (3,6 y 9%) contrariamente a *Ludwigia peruviana* y *Mimosa polydactyla* que tuvieron bajos valores en 6 y 9% de concentración. Por lo que se puede inferir que en una relación especie-concentración, *Zea mays* y *Sorghum vulgare* bajan la cantidad de biomasa radicular a medida que se sube las concentraciones, a diferencia de *Panicum máximum jacq* y *Phaseolus vulgaris* que a cualquier concentración tienen la misma tendencia de crecimiento.

Figura 63

Análisis de varianza de biomasa radicular, TPH vs especie.

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Especie	3	7130051	2376684	4371.01	< 2e-16 ***
## TPHs	1	16157	16157	29.71	2.62e-07 ***
## Residuals	123	66880	544		

Nota. (Los autores,2021).

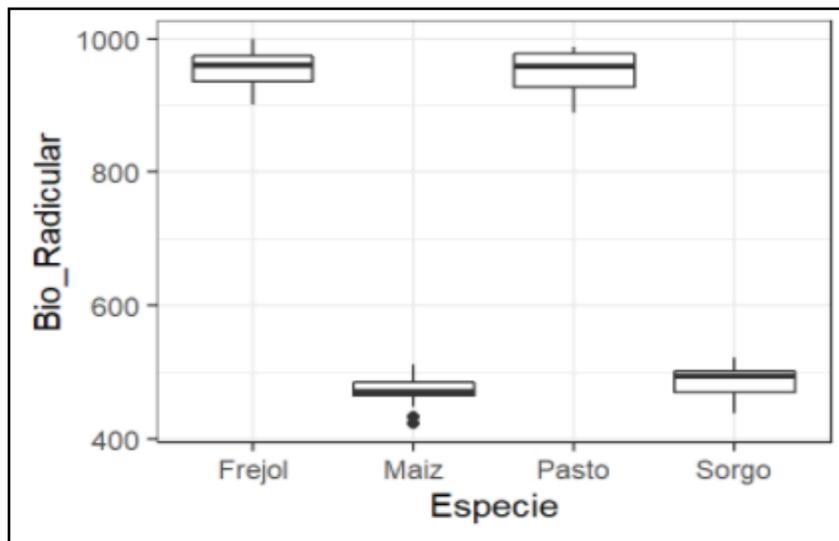
Con un p-valor de 2.62e-07 (Fig.63) el cual es menor a 0.05, se determina que el valor de la diferencia entre las medias de TPH tiene significancia, por lo que se puede suponer que la biomasa

radicular de las especies infiere en la reducción de TPH. De igual manera que en la biomasa aérea (Clemente y Bernal, 2007) señalan que la raíz es otra parte de la planta en donde se acumula el contaminante, teniendo relación con la disminución del crudo, sin embargo, la cantidad o longitud de la misma no determina que exista una mayor reducción.

Por otro lado, se puede interpretar que con un p-valor de $2e-16$ (fig.63) el cual es menor a 0.05 interpretando que el valor de la diferencia entre las medias de la especie tiene significancia, sugiriendo que la biomasa de la planta va a depender del tipo de especie vegetal. Coincidiendo con (Quiñonez y Ferrera, 2003) quienes mencionan que una especie vegetal para lograr estimular una absorción o degradación de contaminantes en la rizosfera va a depender de la planta y el vigor de sus raíces.

Figura 64

Biomasa radicular vs especie.



Nota. la figura representa la especie que alcanzó la mayor biomasa radicular dentro del ensayo experimental. (Los autores, 2021).

Como se denota en la figura 64 *Panicum máximum jacq* y *Phaseolus vulgaris* son las especies con mayor biomasa radicular respectivamente, lo contrario de *Zea mays* y *Sorghum vulgare* que obtuvieron valores bajos dentro del ensayo experimental. Lo que quiere decir que las dos especies con mayor biomasa radicular absorbieron principalmente los TPH en sus raíces.

Según estos resultados se puede deducir que existe una relación con la cantidad de UFC presentes en la rizosfera de las especies al finalizar el estudio, interpretando que existió una relación planta- microorganismo.

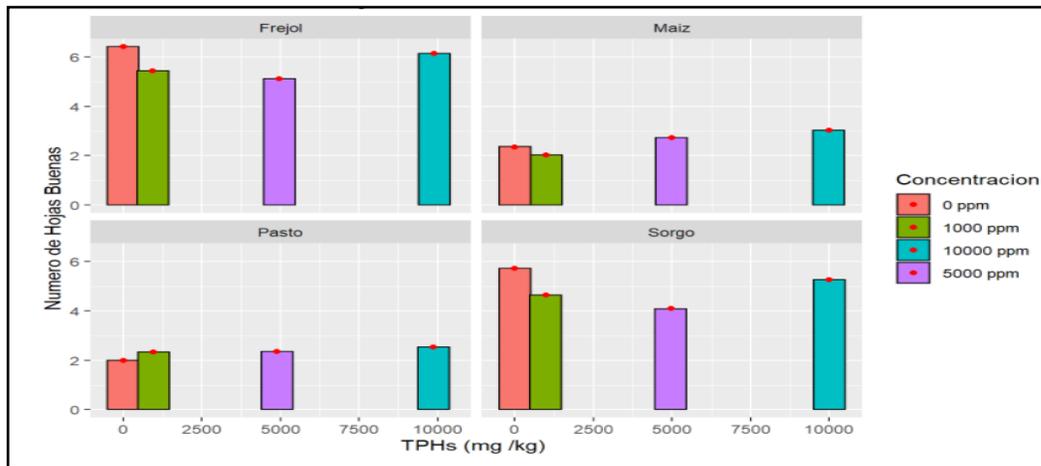
4.3.1.5. Número de hojas.

4.3.1.5.1. Número de hojas en buen estado.

4.3.1.5.2.

Figura 65

Número de hojas en buen estado vs TPH a los 15 días.

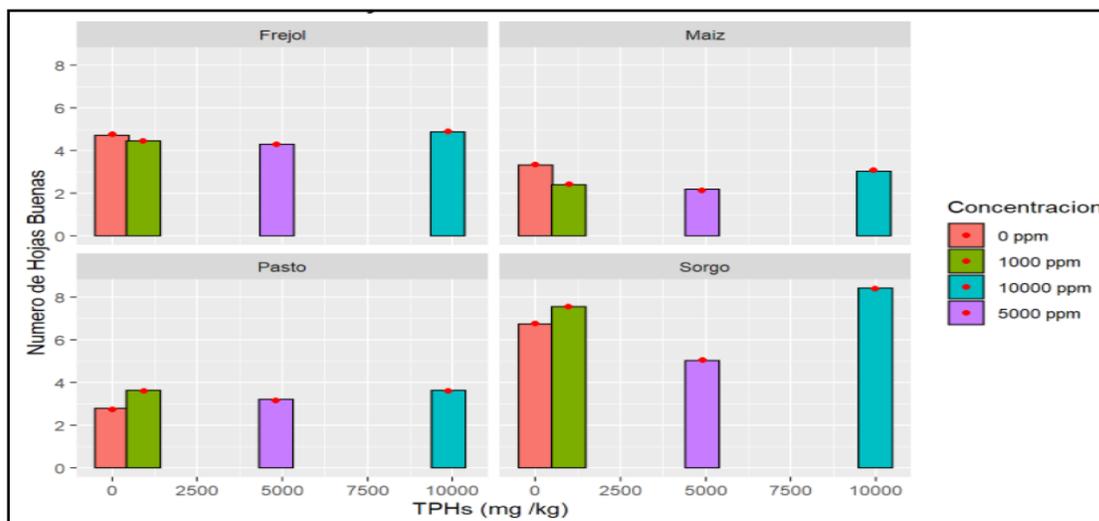


Nota. Medición de hojas en buen estado a los 15 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Como se aprecia en la fig.65 la planta *Phaseolus vulgaris* en todas las concentraciones tiene mayor número de hojas en buen estado, seguido por *Sorghum vulgare*. Por otro lado, *Panicum máximum jacq* y *Zea mays* son las especies que presentan menor número de hojas buenas.

Figura 66

Número de hojas en buen estado vs TPH a los 30 días.

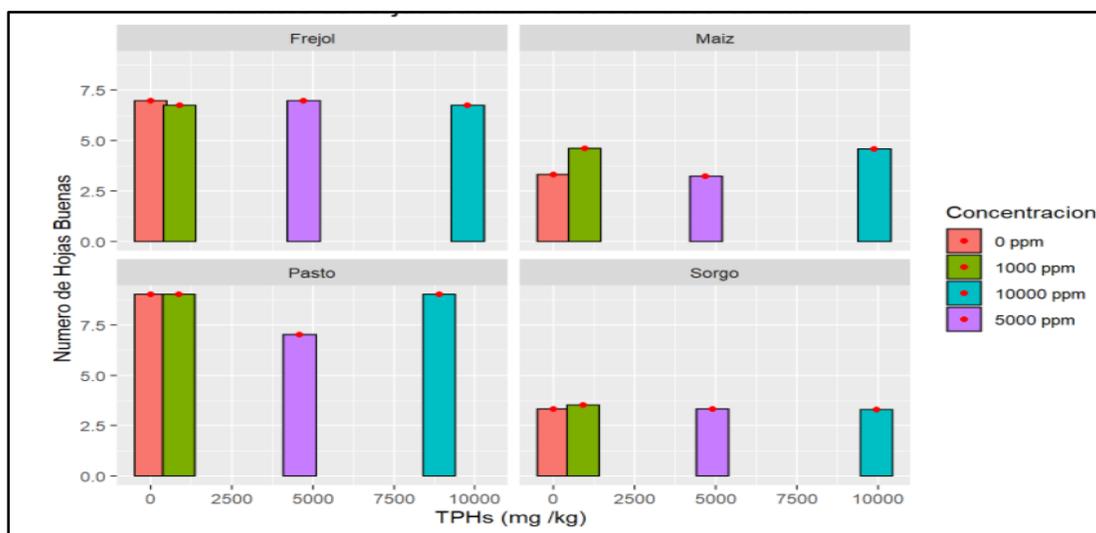


Nota. Medición de hojas en buen estado a los 30 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A diferencia de la fig. 65 *Sorghum vulgare* es la especie con mayor número de hojas en buen estado en todas las concentraciones, *Phaseolus vulgaris* quedó en segundo lugar y *Zea mays* la especie con menor hojas buenas.

Figura 67

Número de hojas en buen estado vs TPH a los 45 días.

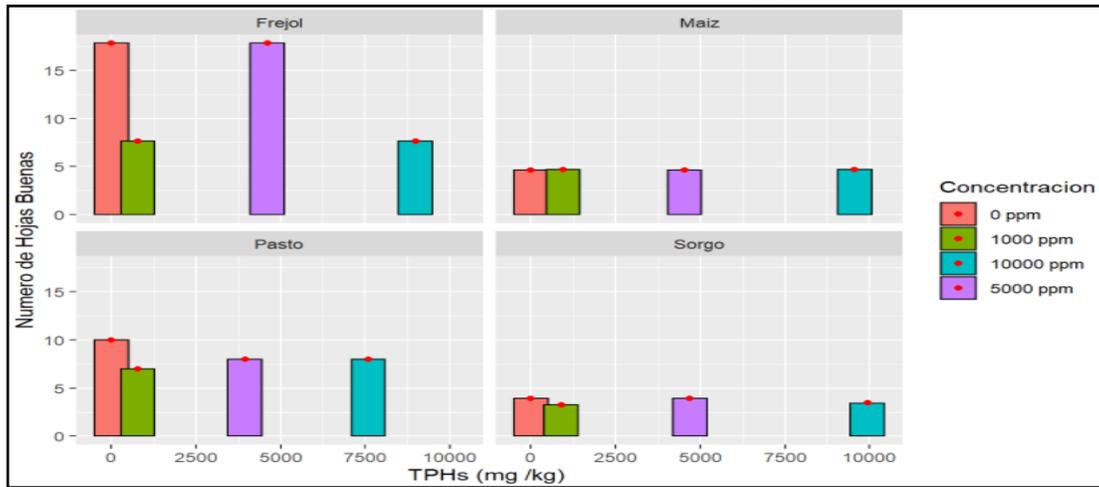


Nota. Medición de hojas en buen estado a los 45 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 45 días *Panicum máximo* jacq presentó un gran cambio, ya que el número de hojas buenas aumentó significativamente y *Sorghum vulgare* que al principio fue la especie más sobresaliente, en esta ocasión fue la que menos hojas buenas tuvo. Esto sucedió en todas las concentraciones.

Figura 68

Número de hojas en buen estado vs TPH a los 60 días.

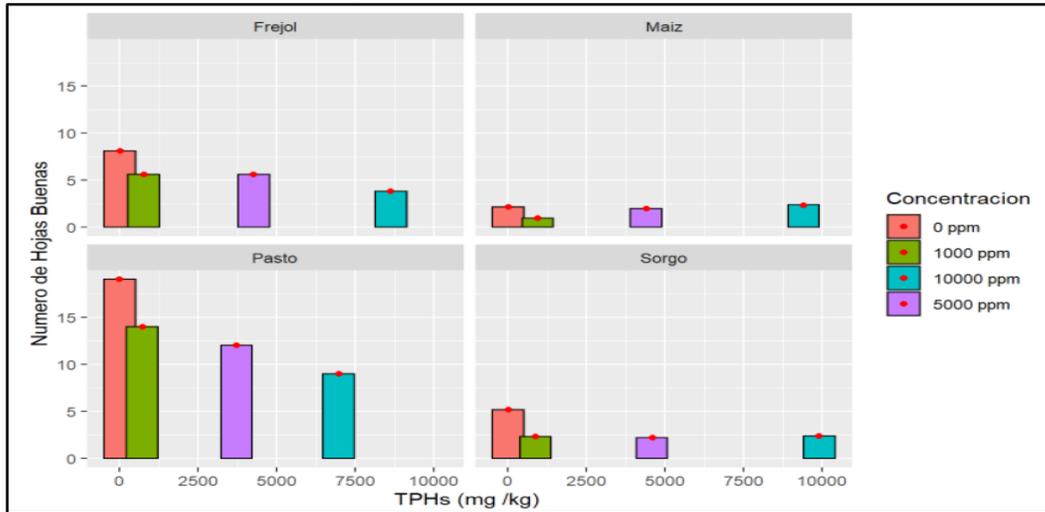


Nota. Medición de hojas en buen estado a los 60 días del inicio del estudio. Fuente: (Los autores, 2021).

Phaseolus vulgaris es la especie con mayor número de hojas en buen estado, seguido por *Panicum máximo* jacq. Cabe mencionar que en el testigo en todas las especies poseen mayor hojas buenas a comparación de las otras concentraciones.

Figura 69

Número de hojas en buen estado vs TPH a los 75 días.

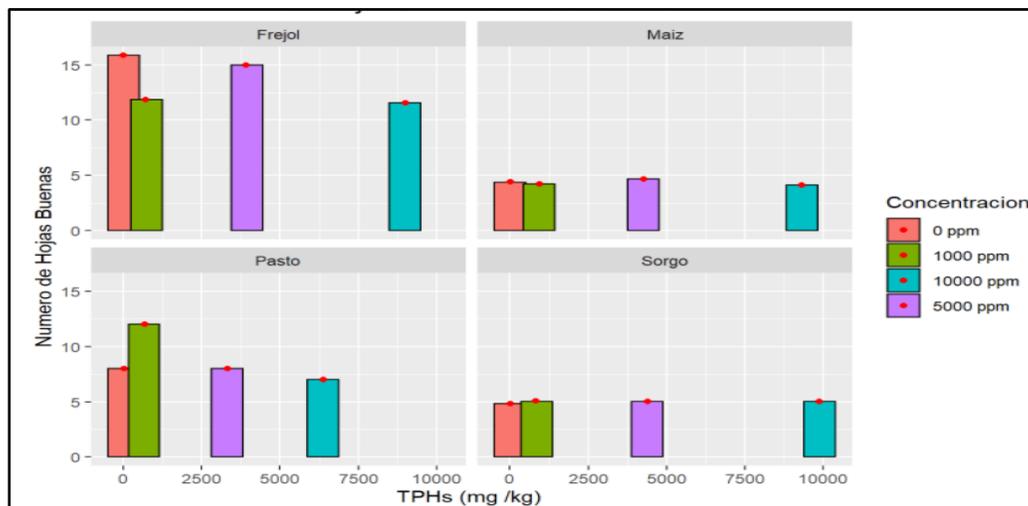


Nota. Medición de hojas en buen estado a los 75 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Como se aprecia en la fig. 69, transcurridos los 75 días, *Panicum máximum* jacq presenta mayor número de hojas buenas, así como en el testigo de todas las especies. *Sorghum vulgare* y *Zea mays* muestran menor número de hojas en buen estado.

Figura 70

Número de hojas en buen estado vs TPH a los 90 días.

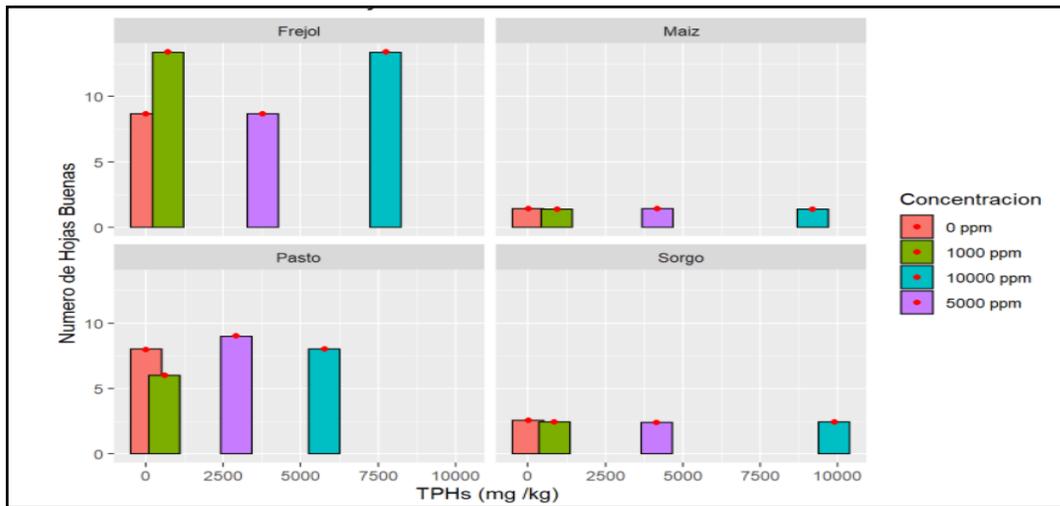


Nota. Medición de hojas en buen estado a los 90 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 90 días se observa que la especie *Phaseolus vulgaris* sobresale en todas las concentraciones, sin embargo, en el testigo presenta mayor número de hojas buenas a comparación de las otras concentraciones, *Zea Mays* fue la especie con menos hojas buenas.

Figura 71

Número de hojas en buen estado vs TPH a los 105 días.

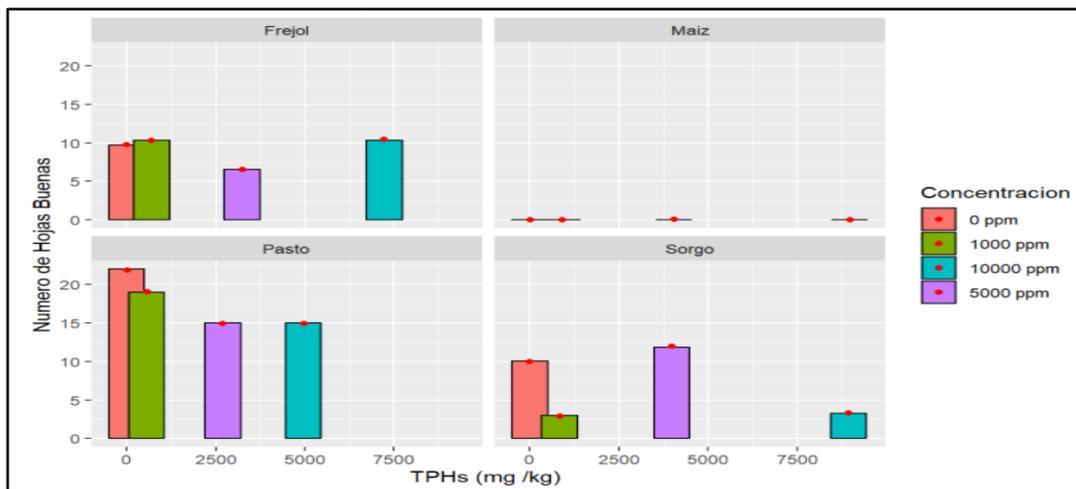


Nota. Medición de hojas en buen estado a los 105 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 105 días *Zea Mays* continúa siendo la especie con menor número de hojas en buen estado, *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq son las especies que sobresalen en hojas buenas, esto se presenta en todas las concentraciones incluida el testigo, sin embargo, en relación a la Fig.70 disminuyó el número de hojas buenas.

Figura 72

Número de hojas en buen estado vs TPH a los 120 días.



Nota. Medición de hojas en buen estado a los 120 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Al finalizar los 120 días la especie *Zea mays* ya no es tomada en cuenta, ya que las mismas murieron y por ende no tienen hojas buenas, *Panicum máximum jacq* fue la planta que sobresalió con respecto a las otras especies, además se apreció el cambio en *Sorghum vulgare* la cual superó a *Phaseolus vulgaris* en la concentración 5000 ppm con respecto a las anteriores mediciones.

Observando las figuras se denota que en las especies *Panicum máximum jacq* y *Phaseolus vulgaris* mientras disminuyen los TPH se mantienen o aumentan las hojas en buen estado independientemente de la concentración durante los cuatro meses, lo que sugiere que tuvieron una mejor adaptabilidad a sus condiciones y continuaron su desarrollo.

Zea mays y *Sorghum vulgare* aumentaron sus hojas en buen estado hasta la cuarta medición (2 meses) y a partir de ese tiempo se mantuvo con el mismo valor de hojas, esta tendencia fue para todas las concentraciones. Esto tiene relación con (Quiñonez y Ferrera, 2003) quienes mencionan que a los 65 días del desarrollo de *Zea mays* en suelo contaminado con crudo la especie ya no presentó cambios en cuanto al número de hojas en buen estado sino más bien se empezaron a dañar

o a morir. Por otro parte, (Andina, 2015) señala que *Sorghum vulgare* y *Sorghum bicolor* presentaron una reducción de hojas en buen estado dentro de 45 días de someterlas a suelos contaminados con aceite residual automotriz.

Por lo tanto, se puede decir que todas las especies tuvieron hojas en buen estado sin embargo *Panicum máximum jacq* es la planta que sobresalió en número, esto concuerda con (Sangabriel et al., 2006) que de entre las 6 especies vegetales estudiadas *Panicum máximum* destaco en cuanto a hojas en buen estado.

Figura 73

Análisis de varianza de hojas en buen estado, TPH vs especie.

##		Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
##	Especie	3	895.0	298.32	24.286	2.07e-12 ***
##	TPHs	1	29.9	29.94	2.437	0.121
##	Residuals	123	1510.9	12.28		

Nota. (Los autores,2021).

Observando la fig.73 con un p-valor de 0.121 el cual es mayor a 0.05 determinando que el valor de la diferencia entre las medias de TPH no tiene significancia, por lo que no se puede asegurar que el número de hojas buenas de las plantas infiere en la reducción de TPH. En su publicación (Gamarra y Munive, 2019) indican que toda planta utilizada en remover un contaminante va a presentar hojas en buen estado especialmente en el último entrenudo de la especie, ya que la mayor parte del contaminante se distribuye en el primer y segundo entrenudo, así como en las hojas que forman parte de los mismos, por lo que no sugiere que el buen estado de las hojas no tiene que ver con que hayan reducido el contaminante.

Se puede interpretar que con un p-valor de 2.07e-12 (fig,73) el cual es menor a 0.05 lo que quiere decir que existe significancia entre las medias de las especies, deduciendo que el número de hojas va a depender del tipo de especie vegetal. (Prieto y Gonzáles, 2009) mencionan que cada

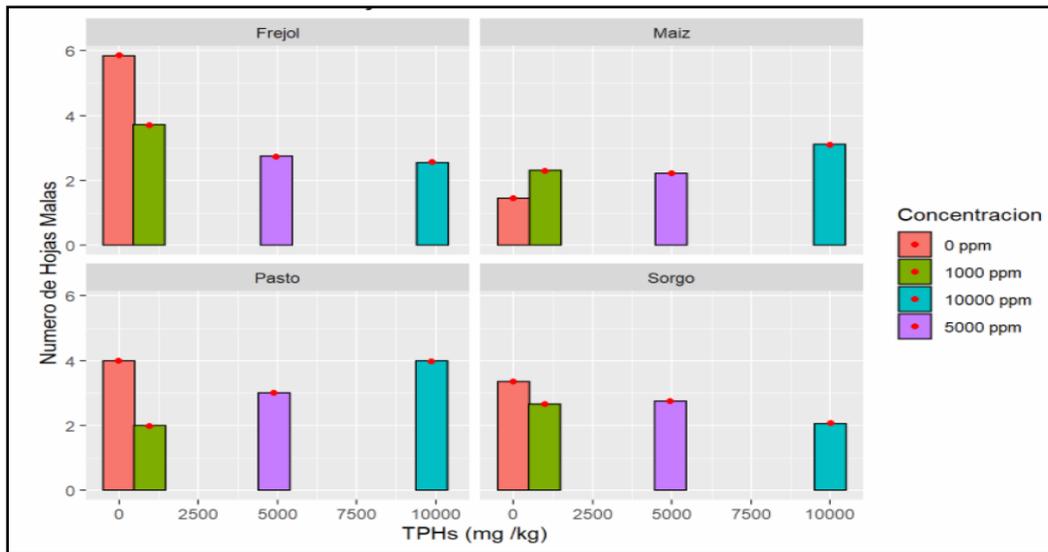
especie es única y diferente por lo que pueden presentar mayor desarrollo y adaptación o mayor sensibilidad a los distintos tipos de contaminantes en sus diversos grados de concentración.

Por lo que se interpreta que si la planta desarrolla un buen nivel de adaptación frente al contaminante esta va a seguir con su crecimiento y por ende van a aumentar su número de hojas, ya sean en buen o mal estado.

4.3.1.5.3. Número de hojas en mal estado.

Figura 74

Número de hojas en mal estado vs TPH a los 15 días.

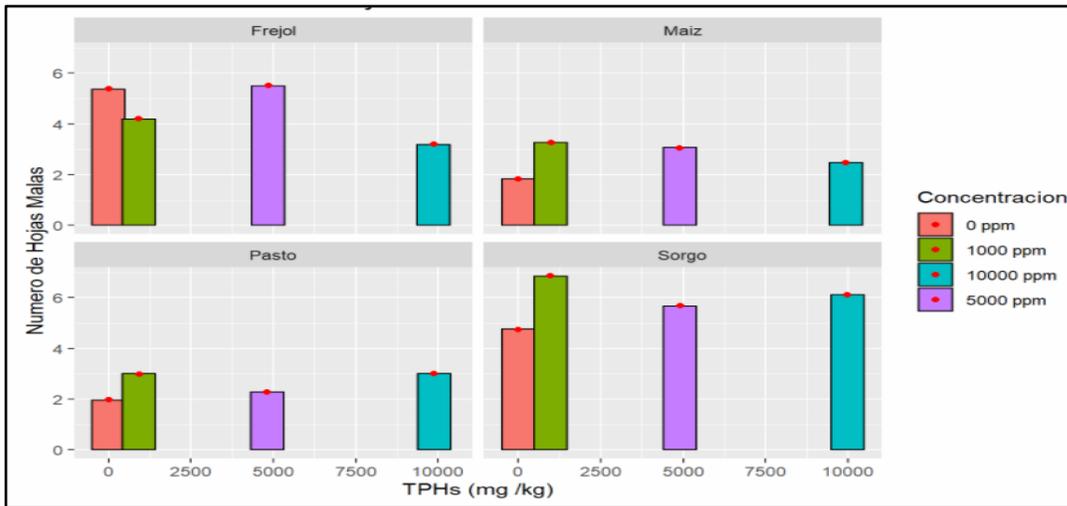


Nota. Medición de hojas en mal estado a los 15 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 15 días de empezar el estudio las especies, *Phaseolus vulgaris*, *Panicum máximum* jacq y *Sorghum vulgare* son las que tienen mayor hojas en mal estado, esto sucede en todas las concentraciones.

Figura 75

Número de hojas en mal estado vs TPH a los 30 días.

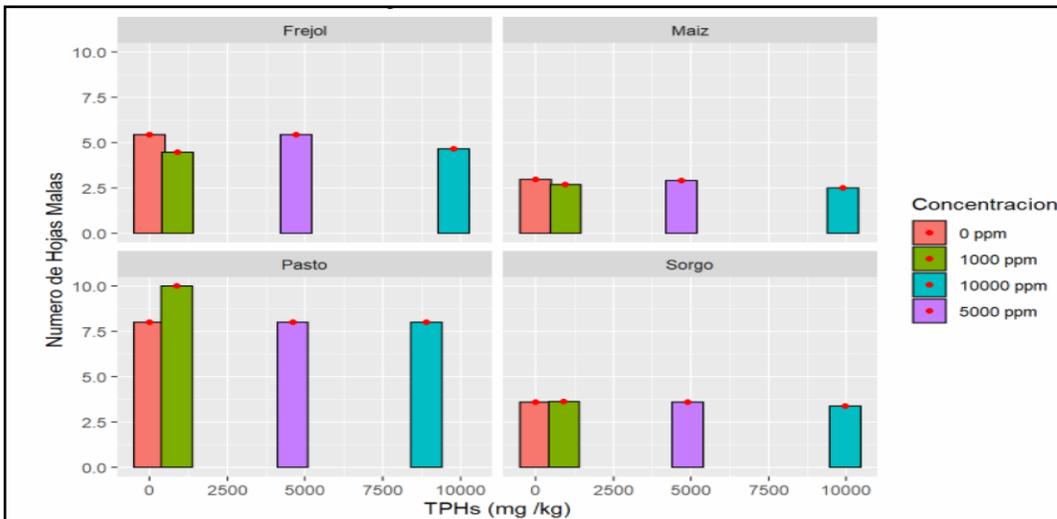


Nota. Medición de hojas en mal estado a los 30 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Transcurrido el primer mes la especie que destaca con hojas en mal estado es *Sorghum vulgare*, especialmente en las concentraciones 1000 y 10000 ppm. La especie *Phaseolus vulgaris* en 5000 ppm también presenta un número significativo de hojas en mal estado junto con *Sorghum vulgare*.

Figura 76

Número de hojas en mal estado vs TPH a los 45 días.

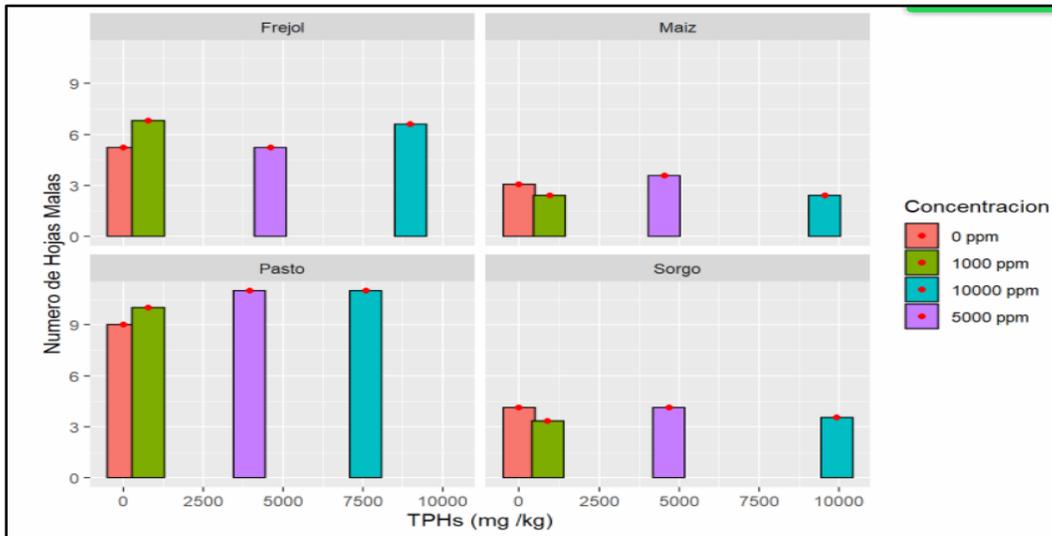


Nota. Medición de hojas en mal estado a los 45 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 45 días del estudio se aprecia en la fig. 76 que *Zea mays* y *Sorghum vulgare* presentan el menor número de hojas en mal estado, mencionando además que *Panicum máximum* jacq es la especie que se destaca a comparación de las demás plantas en hojas dañadas.

Figura 77

Número de hojas en mal estado vs TPH a los 60 días.

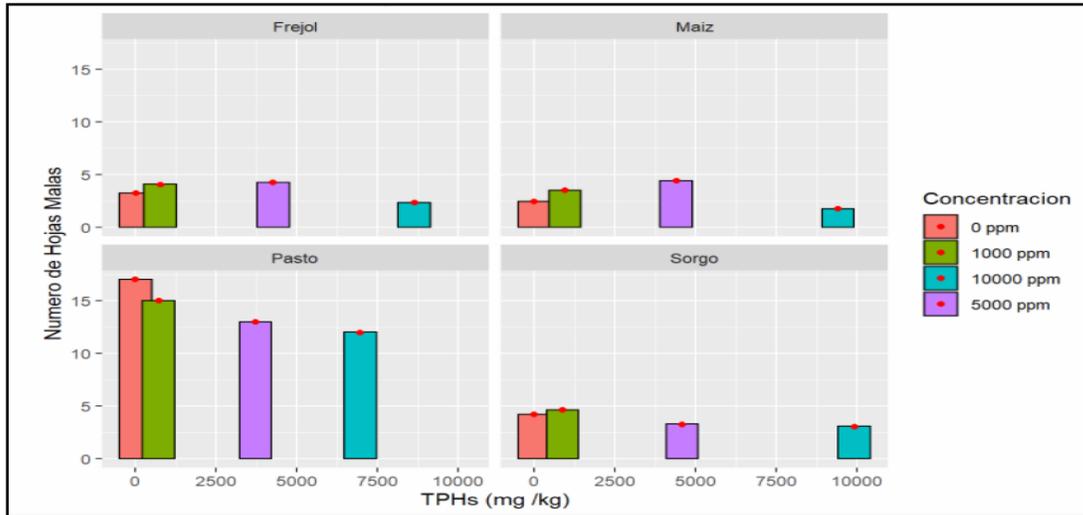


Nota. Medición de hojas en mal estado a los 60 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Se observa que a los 60 días se mantiene la misma tendencia de la fig. 76 en la que la especie con mayor afectación en sus hojas es *Panicum máximum* jacq, presentándose en todas las concentraciones. Se puede destacar que en el testigo el número de hojas en mal estado es menor en las especies *Panicum máximum* jacq y *Phaseolus vulgaris*.

Figura 78

Número de hojas en mal estado vs TPH a los 75 días.

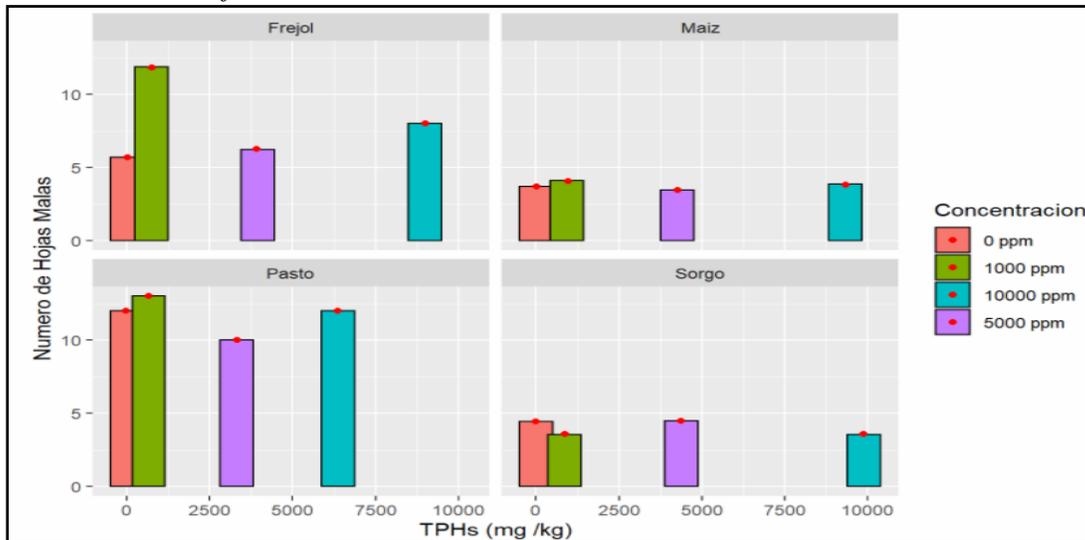


Nota. Medición de hojas en mal estado a los 75 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 75 días en las especies *Sorghum vulgare*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays* se presentó un menor número de hojas en mal estado en el testigo, a diferencia de *Panicum máximo* jacq que presento mayor afectación en sus hojas en todas las concentraciones, especialmente en el blanco (0ppm).

Figura 79

Número de hojas en mal estado vs TPH a los 90 días.

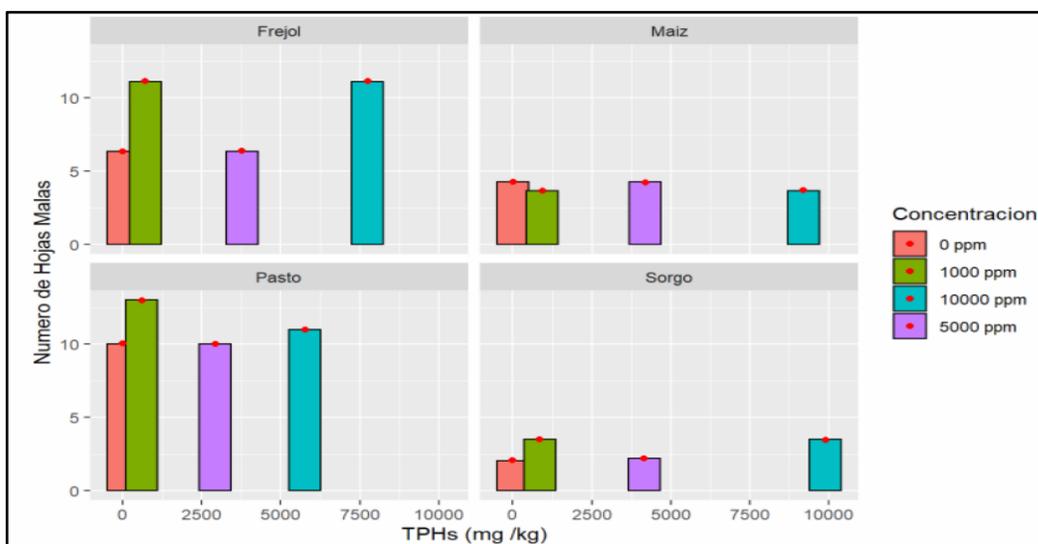


Nota. Medición de hojas en mal estado a los 90 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

La especie *Panicum máximo* jacq es la que mayor hojas en mal estado tiene con respecto a las demás especies, por otro lado, en la concentración 10000 ppm las especies *Zea mays* y *Sorghum vulgare* se encuentran con valores similares. *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays* y *Panicum máximo* jacq en el testigo tienen menor índice de hojas afectadas.

Figura 80

Número de hojas en mal estado vs TPH a los 105 días.

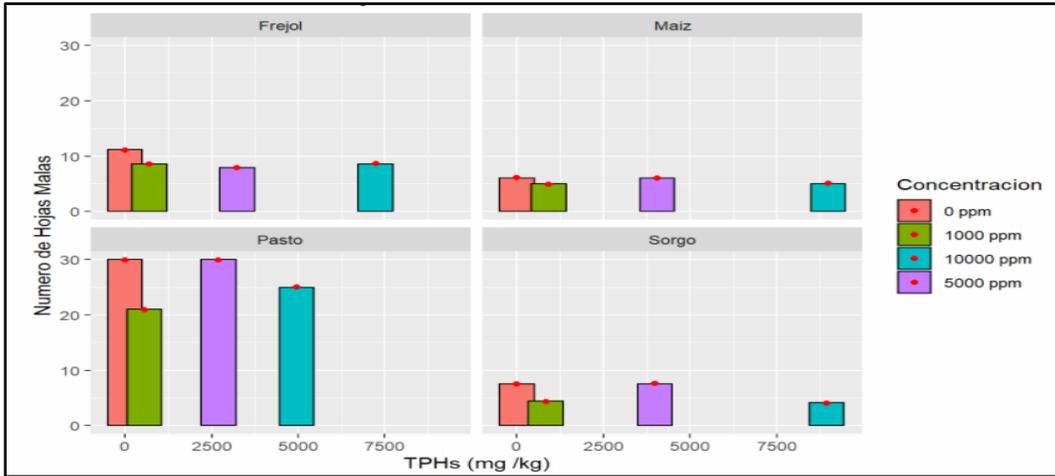


Nota. Medición de hojas en mal estado a los 105 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

En todas las concentraciones incluido el testigo sobresale *Panicum máximo* jacq con mayor cantidad de hojas en mal estado, seguido por *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays* y *Sorghum vulgare*. En todas las especies a excepción de *Zea mays* el testigo es el que presenta menor cantidad de hojas malas.

Figura 81

Número de hojas en mal estado vs TPH a los 120 días.



Nota. Medición de hojas en mal estado a los 120 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 120 días la especie *Zea mays* todas sus hojas se encuentran en mal estado, ya que cumplió su ciclo de vida y murió, *Panicum máximum* jacq sobresale con el mayor número de hojas afectadas, mientras tanto las especies *Sorghum vulgare* y *Phaseolus vulgaris* presentan valores similares.

Entre las especies con mayor número de hojas en mal estado se encuentran *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq. Tendencia similar lo presentó (Sangabriel et al., 2006) en sus especies *Phaseolus coccineus* y *Phaseolus vulgaris* que llegaron a presentar un 71% de hojas en mal estado al finalizar su estudio.

Figura 82

Análisis de varianza de hojas en mal estado, TPH vs especie.

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Especie	3	1093.7	364.6	22.335	1.3e-11 ***
## TPHs	1	35.1	35.1	2.148	0.145
## Residuals	123	2007.7	16.3		

Nota. (Los autores,2021).

Con un p-valor de 0.145 (fig.82) el cual es mayor a 0.05 lo que quiere decir que el valor de la diferencia entre las medias de TPH no tiene significancia, por lo que no se puede asegurar que el número de hojas malas de las plantas infiere en la reducción de TPH. (Quiñonez y Ferrera, 2003) mencionan que al entrar en contacto una planta con el hidrocarburo este daña y/o mata el follaje y tejidos de la misma al degradar el contaminante, así mismo el crudo se acumula en sus hojas haciendo que estas se tornen amarillentas y por ende se van desprendiéndose de la planta. Si bien estos autores mencionan que el mal estado de las hojas es producto del contaminante (Mejía y Herrera, 2012) manifiestan que no se puede únicamente atribuir el mal estado de una planta por absorber o degradar un compuesto ya que existen factores climáticos y agronómicos (plagas, enfermedades, manejo de suelos, entre otros) que degradan el bienestar de la especie vegetal.

Por lo que se puede afirmar que el mal estado de una hoja no solo se debe a que esta redujo el contaminante sino también a otros factores, sugiriendo que el descenso de los TPH no se atribuye completamente al aspecto o descomposición de la planta, en este caso sus hojas.

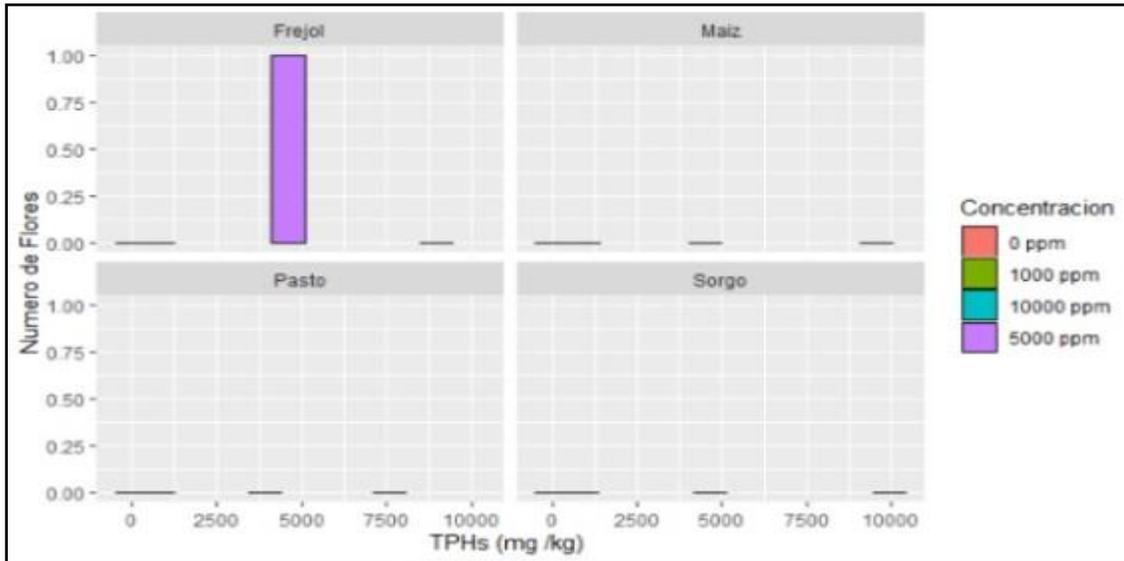
Como se observa en la fig.82 se tiene un p-valor de $1.3e-11$ el cual es menor a 0.05 lo que quiere decir que existe significancia entre las medias de las especies, deduciendo que el número de hojas va a depender del tipo de especie vegetal.

Concordando y reiterando con lo que manifestaron (Prieto y Gonzáles, 2009) que cada especie es única y diferente por lo que pueden presentar mayor desarrollo y adaptación o mayor sensibilidad a los distintos tipos de contaminantes en sus diversos grados de concentración.

4.3.1.6.Flores

Figura 83

Número de flores vs TPH a los 60 días.

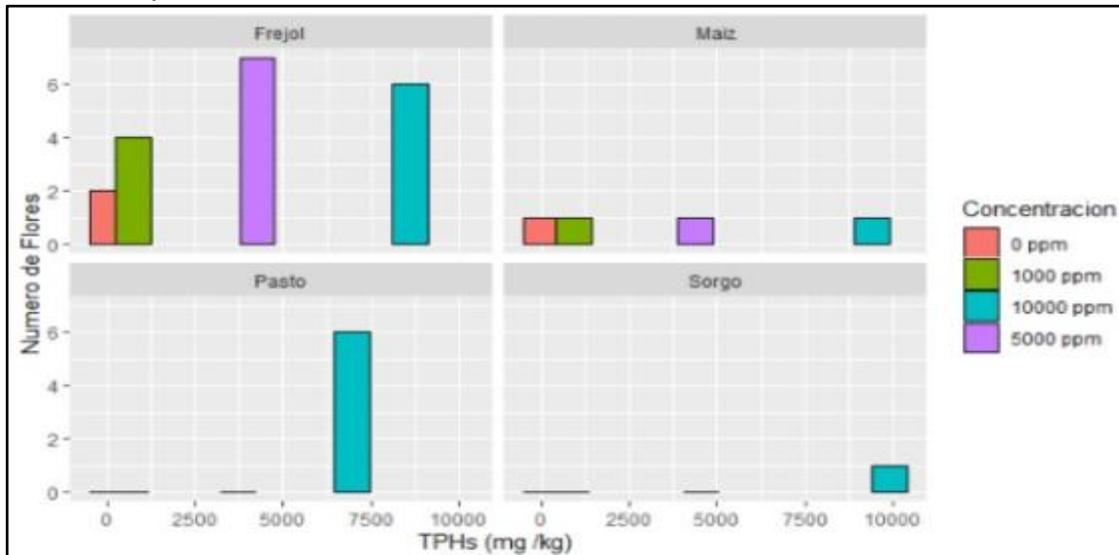


Nota. Medición de flores a los 60 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Transcurridos los dos primeros meses apareció las primeras flores en la concentración 5000 ppm de la especie *Phaseolus vulgaris*, en las concentraciones 1000 y 10000 ppm no se desarrollaron frutos en ninguna de las cuatro especies.

Figura 84

Número de flores vs TPH a los 75 días.

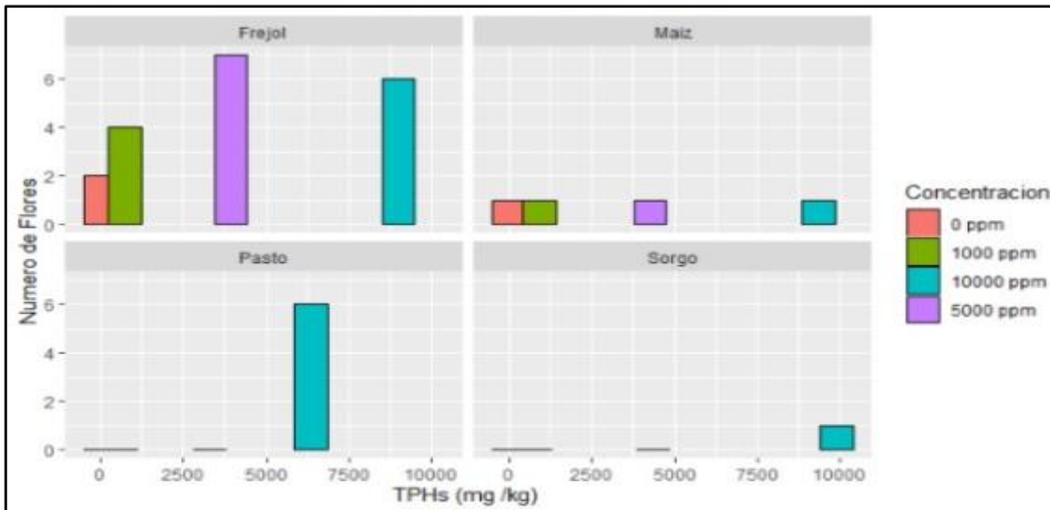


Nota. Medición de flores a los 75 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 75 días se desarrollaron flores en *Zea Mays* y *Phaseolus vulgaris* en todas sus concentraciones, por otra parte, en *Sorghum vulgare* y *Panicum máximo* jacq solamente en 10000 ppm se observó el crecimiento de flores.

Figura 85

Número de flores vs TPH a los 90 días.

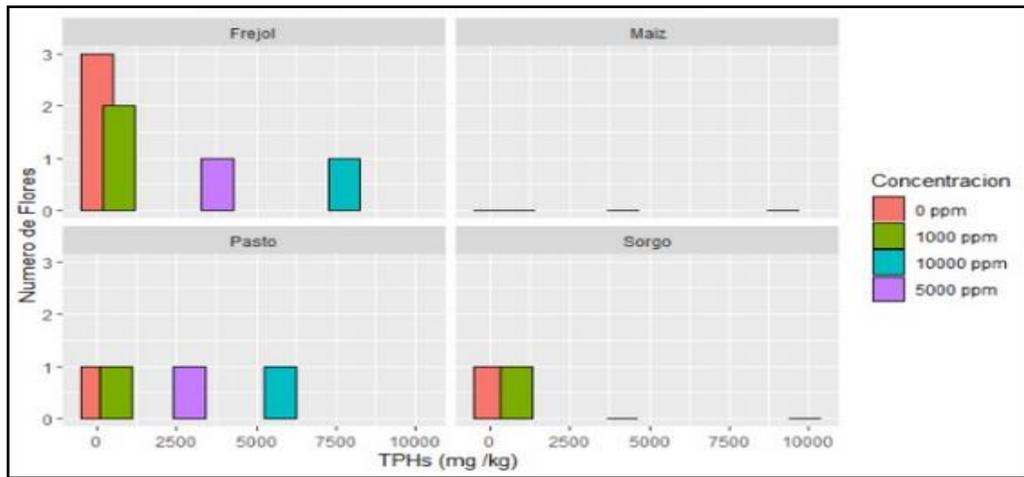


Nota. Medición de flores a los 90 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 3 meses se aprecia que en todas las concentraciones hubo crecimiento de flores en *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*, a excepción de *Sorghum vulgare* y *Panicum máximo* jacq que desarrollaron flores solo en la concentración 10000 ppm

Figura 86

Número de flores vs TPH a los 105 días.



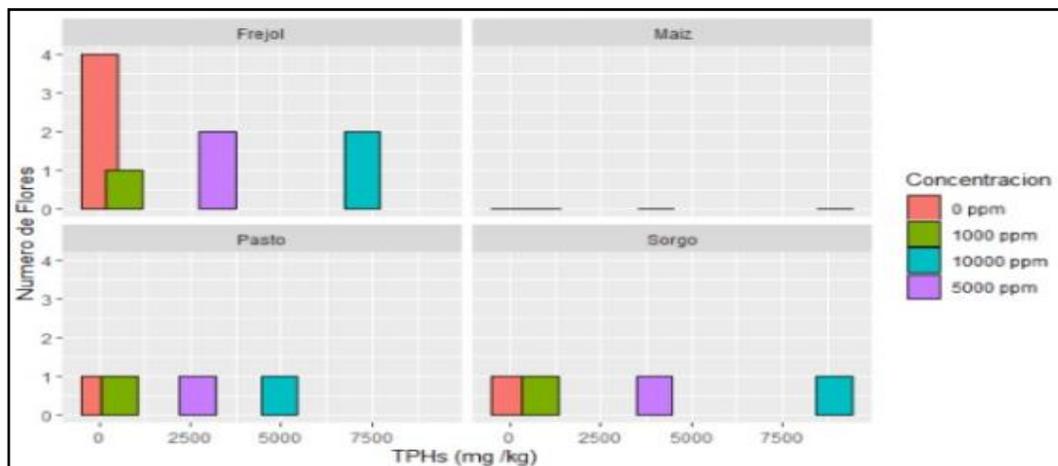
*Nota.*Medición de flores a los 105 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 105 días se presentaron flores en las especies *Phaseolus vulgaris* y *Panicum máximum* jacq en todas sus concentraciones, *Sorghum vulgare* presentó flores unicamente en las concentracion 1000 ppm y en el testigo.

Se observa que en la especie *Zea mays* no hay flores en ninguna concentración incluido el testigo, debido a que la planta murió.

Figura 87

Número de flores vs TPH a los 120 días.



*Nota.*Medición de flores a los 120 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 120 días el testigo presenta la mayor cantidad de flores en *Phaseolus vulgaris*, se aprecia que en *Panicum máximum* jacq y *Sorghum vulgare* existe similar cantidad de flores en todas sus concentraciones, por el contrario, *Zea mays* ya no posee flores en ninguna concentración incluido el testigo, debido a que la planta murió.

Existen solo cinco mediciones debido a que en las tres primeras no se desarrollaron flores en ninguna especie vegetal, concordando con (Arias y Rivera, 2016) que indican un crecimiento de flores a los 45 días de iniciar el estudio, cabe mencionar que sus especies también son de ciclos cortos como las utilizadas en este ensayo experimental.

A través de las gráficas se observa que a partir del segundo mes existió aumento de flores a medida que descendía el TPH, tendencia compartida con (Andina, 2015). La especie que presentó mayor cantidad de flores fue *Phaseolus vulgaris*.

Figura 88

Análisis de varianza de flores, TPH vs especie.

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Especie	3	43.02	14.341	7.422	0.000131 ***
## TPHs	1	1.81	1.814	0.939	0.334469
## Residuals	123	237.65	1.932		

Nota. (Los autores,2021).

Como se aprecia en la Fig. 88 se tiene un p-valor de 0.334469 el cual es mayor a 0.05, determinando que el valor de la diferencia entre las medias de TPH no tiene significancia, por lo que no se puede asegurar que el número de flores de las especies infiere en la reducción de TPH. Concordando con (Gamarra y Munive, 2019) que menciona que existen precedentes y numerosos estudios que corroboran que plantas utilizadas en fitorremediación de metales e hidrocarburos

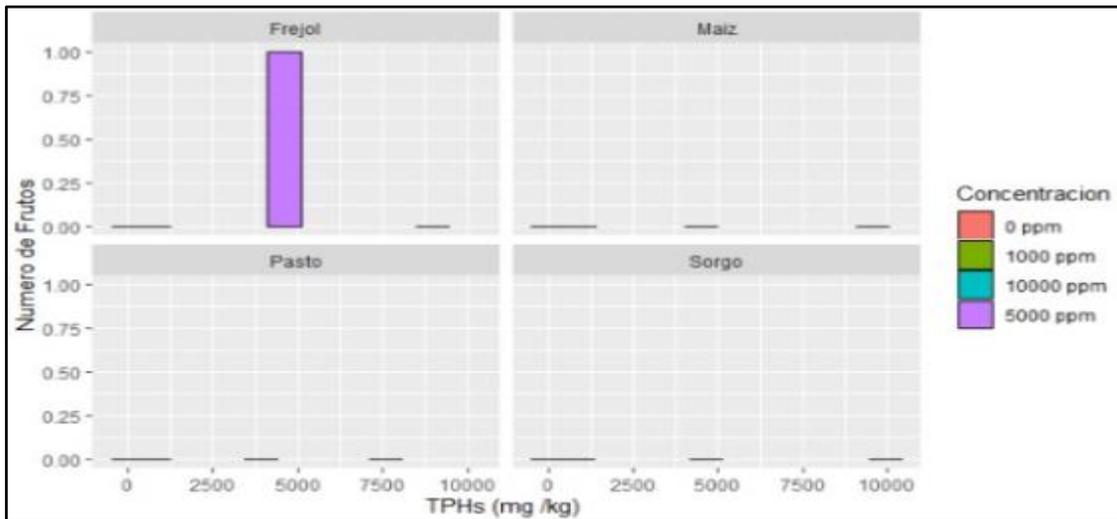
poseen el contaminante en sus flores pero que este es bajo o escaso ya que la mayor acumulación se da en sus raíces y en los dos primeros entrenudos del tallo y por ende en las hojas.

Por otro lado, se puede interpretar que con un p-valor de 0.000131 (fig.88) el cual es menor a 0.05 lo que quiere decir que existe significancia entre las medias de las especies, deduciendo que el número de flores va a depender del tipo de especie vegetal . No todas las especies vegetales utilizadas en fitorremediación van a tener criamiento de flores ya que por estar en contacto con el contaminante estas pueden tener un bajo desarrollo o no terminen de cumplir su ciclo de vida (Peña & Carrillo, 2011).

4.3.1.7.Frutos

Figura 89

Número de frutos vs TPH a los 60 días.

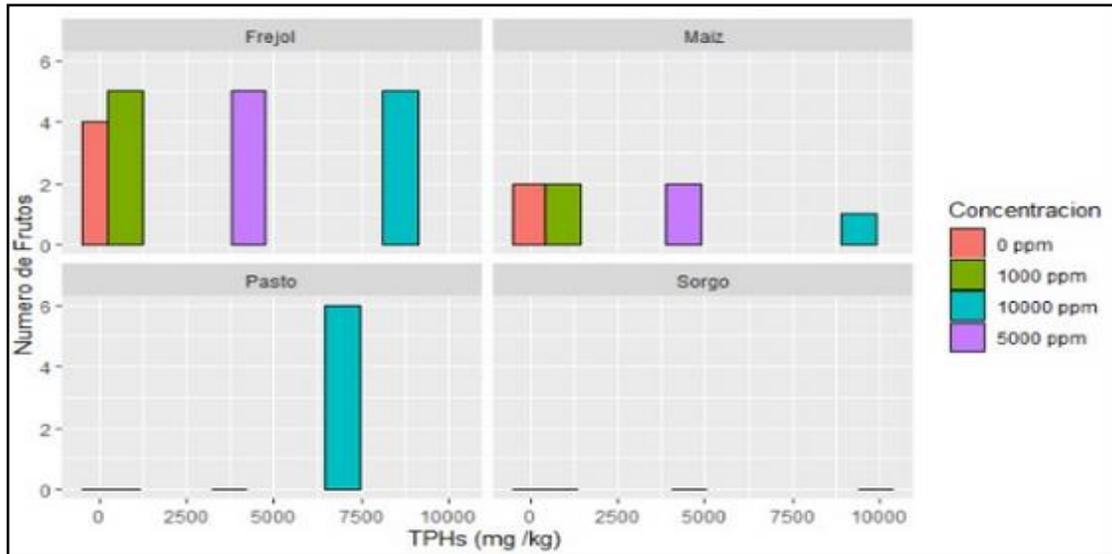


Nota. Medición de frutos a los 60 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 60 días de comenzar el estudio se evidenció el desarrollo de frutos en las especies vegetales, en donde en la concentración 5000 ppm se presentó 1 fruto en las plantas *Phaseolus vulgaris*.

Figura 90

Número de frutos vs TPH a los 75 días.

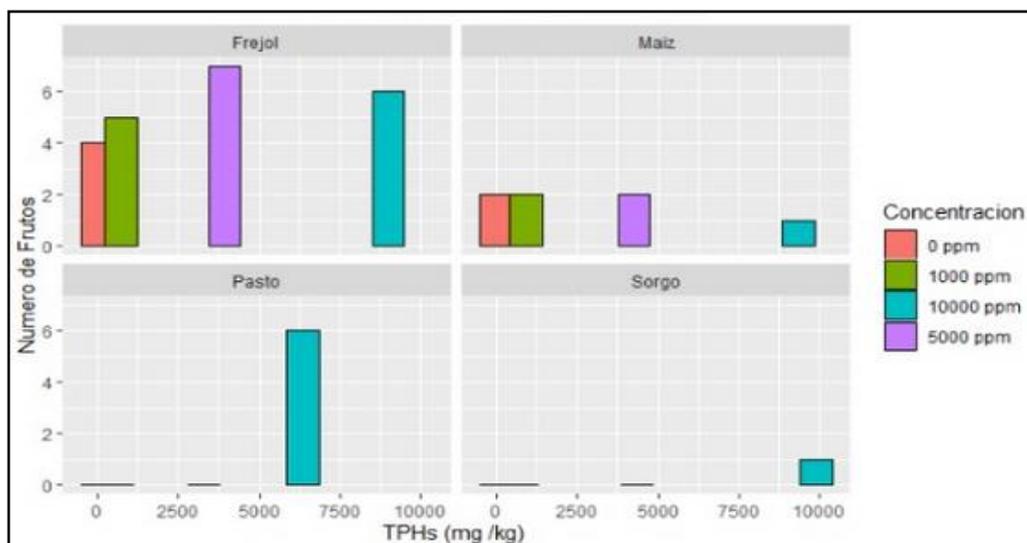


Nota. Medición de frutos a los 75 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

En todas las concentraciones incluido el blanco las especies *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays* desarrollaron frutos en todas sus concentraciones, ya que *Sorghum vulgare* no presento crecimiento, sin embargo, en *Panicum máximum* jacq existió frutos en 10000 ppm.

Figura 91

Número de frutos vs TPH a los 90 días.

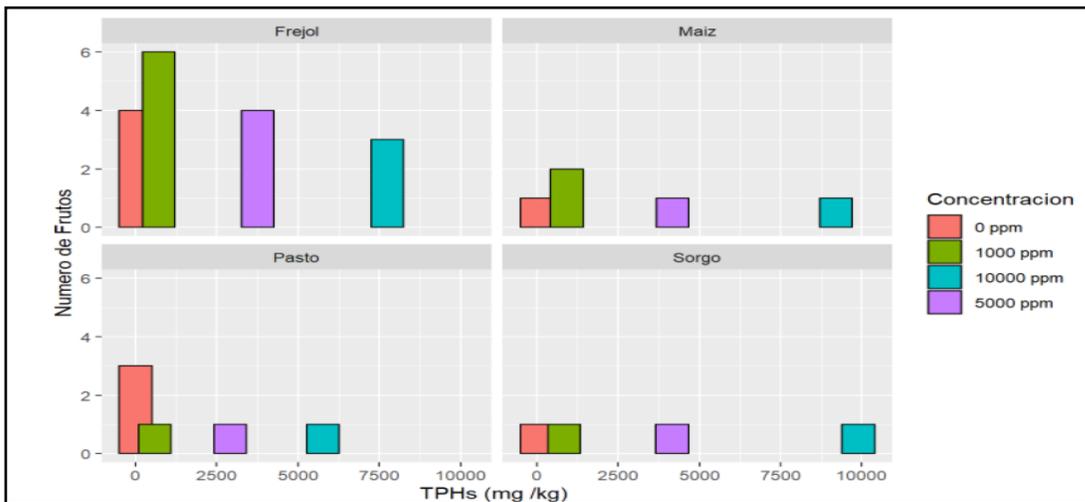


Nota. Medición de frutos a los 90 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 90 días del crecimiento de las especies se puede decir que se sigue con una misma tendencia en la que las plantas *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays* son las que presentan frutos en todas sus concentraciones, contrariamente a *Sorghum vulgare* y *Panicum máximum* jacq que únicamente se desarrollaron frutos en la concentración 10000 ppm.

Figura 92

Número de frutos vs TPH a los 105 días.

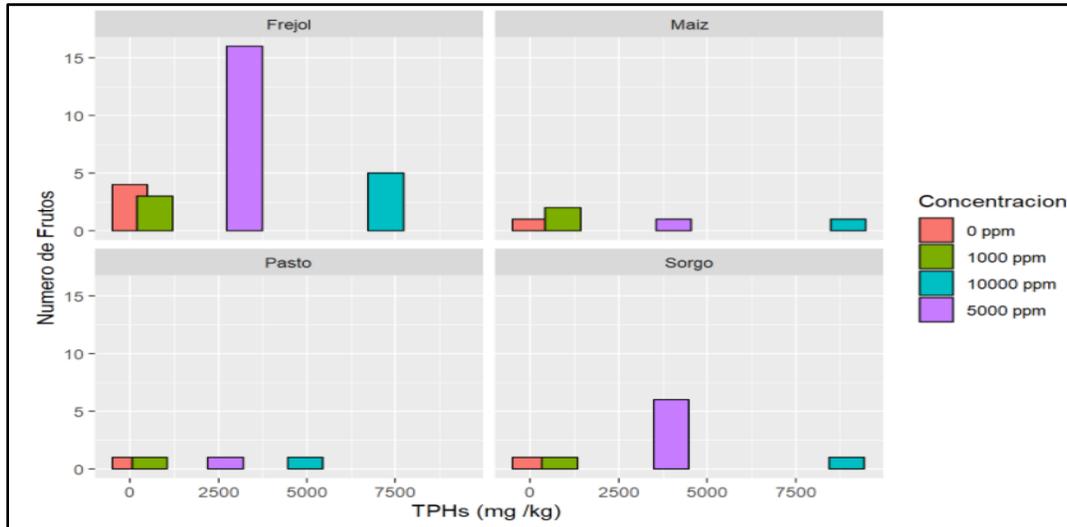


Nota. Medición de frutos a los 105 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

A los 105 días se desarrollaron frutos en todas las especies vegetales empleadas en las cuatro concentraciones a excepción de *Zea mays* que en el testigo no presentó nuevos frutos debido a que la especie cumplió su ciclo de vida. Cabe mencionar que *Phaseolus vulgaris* es la planta con mayor cantidad de frutos a comparación de las demás especies.

Figura 93

Número de frutos vs TPH a los 120 días.



Nota. Medición de frutos a los 120 días del inicio del estudio. (Los autores, 2021).

Al término del ensayo experimental transcurrido los 120 días todas las especies presentaron frutos en todas las concentraciones, de igual manera que en la figura 93 la especie *Zea Mays* culminó entre 1 a 2 frutos en todas sus concentraciones. *Phaseolus vulgaris* fue la planta que más obtuvo frutos durante el estudio.

De igual manera (Arias y Rivera, 2016) indican que el crecimiento de frutos de sus especies estudiadas (ciclo corto) aparecieron a partir de 50 días del inicio de su experimento, datos similares se presentaron en todas las figuras de las cinco mediciones registradas a partir del segundo mes.

A medida de desarrollo y crecimiento de los frutos existió un descenso de TPH, concordando con (Sangabriel et al., 2006). La especie que presentó mayor cantidad fue *Phaseolus vulgaris*.

Figura 94

Análisis de varianza de frutos, TPH vs especie.

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Especie	3	2286	761.9	12.900	2.2e-07 ***
## TPHs	1	168	167.6	2.838	0.0946 .
## Residuals	123	7264	59.1		

Nota. (Los autores,2021).

Con un p-valor de 0.0946 el cual es mayor a 0.05, determinando que el valor de la diferencia entre las medias de TPH no tiene significancia, por lo que no se puede asegurar que el número de frutos de las especies infiere en la reducción de TPH. (Castebianco, 2015) menciona que en plantas fitorremediadoras como *Theobroma cacao* y *Cucumis sativus* se han encontrado pequeñas concentraciones de hidrocarburos dentro de sus frutos en un rango de (65-162mg/kg), sin embargo, el hecho que exista presencia del contaminante en los mismos no significa que estos lo degraden ya que aparecen en la última etapa de su ciclo de vida.

Por otro lado, se puede interpretar que con un p-valor de 2.2e-07 (fig.94) el cual es menor a 0.05 lo que quiere decir estadísticamente que existe significancia entre las medias de las especies, deduciendo que el número de frutos va a depender del tipo de especie vegetal.

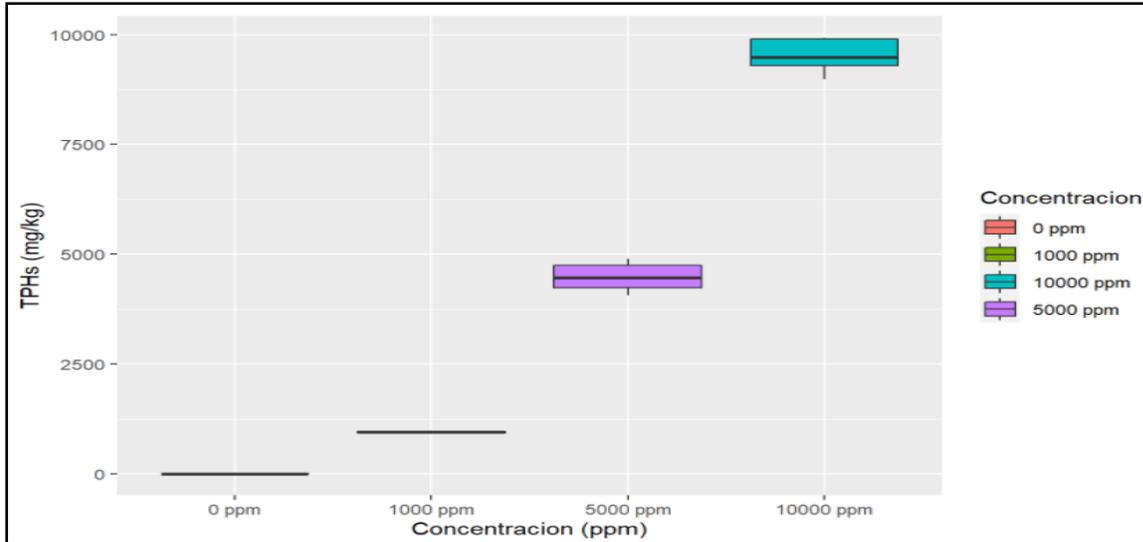
4.3.2. Análisis de TPH vs Concentración.

A continuación, en las siguientes gráficas se presenta la relación existente entre los TPH vs las concentraciones (0,1000,5000,10000) de cada especie.

- *Zea mays*

Figura 95

Concentracion de Zea mays vs TPH



Nota. La figura representa la relación entre los cambios de TPH en cada concentración que se utilizó el maíz. (Los autores,2021).

Observando la figura se puede decir que *Zea mays* tuvo un mejor comportamiento reduciendo más los TPH en la concentración 5000 ppm en comparación de 1000 y 10000 ppm. Obteniendo resultados parecidos con (Quiñonez & Ferrera, 2003) que la mejor evolución y desarrollo de la especie fue en la concentración 4000 mg/kg.

Figura 96

Análisis de varianza de la concentracion de Zea mays

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Concentracion	3	446744961	148914987	2544	<2e-16 ***
## Residuals	28	1638691	58525		

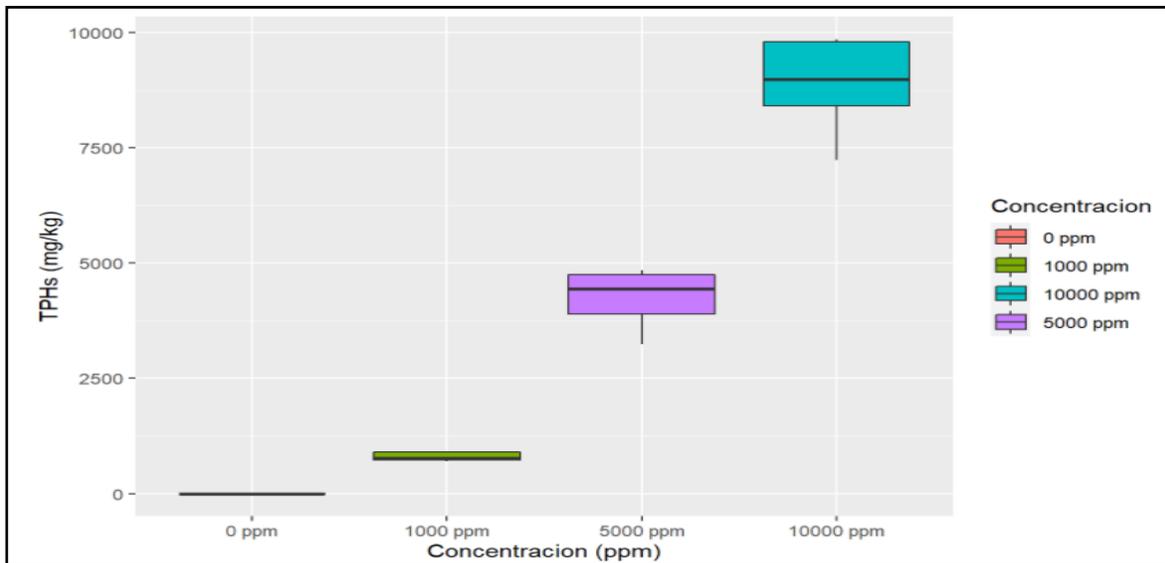
Nota. (Los autores,2021)

En la fig. 96 se observa un p-valor de $2e-16$ el cual es menor a 0.05 lo que quiere decir que el valor de la diferencia entre las medias de concentración tiene significancia, lo que sugiere que la especie *Zea mays* va a depender de la concentración, es decir que a cierto grado de contaminación la especie va a poder ser tolerante o no, como lo sucedido con (Quiñonez y Ferrera, 2003) que sus plántulas de *Zea mays* murieron en concentraciones superiores a 8000 mg/kg.

- *Phaseolus vulgaris*

Figura 97

Concentración de *Phaseolus vulgaris* vs TPH.



Nota. La figura representa la relación entre los cambios de TPH en cada concentración que se utilizó el frejol (Los autores,2021).

Como muestra la fig.97 *Phaseolus vulgaris* tuvo una mejor reducción de THP en la concentración 5000ppm, seguido por 1000 ppm y finalmente 10000 ppm. (Sangabriel et al., 2006) menciona que su especie evaluada *Phaseolus coccineus*, perteneciente al mismo género que *Phaseolus vulgaris*, se adaptó y removió de mejor manera en concentraciones de 5000 a 15000 mg/kg. Teniendo resultados similares a los de este estudio.

Figura 98

Análisis de varianza de la concentración de Phaseolus vulgaris.

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Concentracion	3	393323900	131107967	396.7	<2e-16 ***
## Residuals	28	9254560	330520		

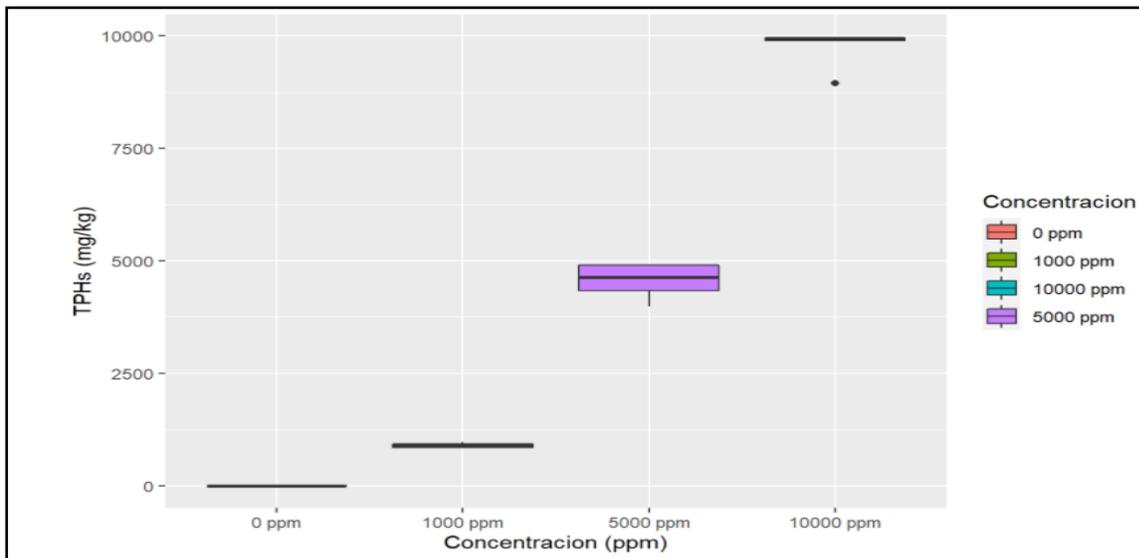
Nota. (Los autores,2021).

La fig.98 indica un p-valor de $2e-16$ el cual es menor a 0.05 determinando que el valor de la diferencia entre las medias de concentración tiene significancia, lo que puede sugerir que la especie *Phaseolus vulgaris* va a depender de la concentración, concordando con (Sangabriel et al., 2006) ya que a concentraciones de 15000 a 25000 mg/kg la especie no fue tolerante y murió.

- *Sorghum vulgare*

Figura 99

Concentracion de Sorghum vulgare vs TPH



Nota. La figura representa la relación entre los cambios de TPH en cada concentración que se utilizó el sorgo (Los autores,2021).

La figura 99 indica que *Sorghum vulgare* redujo de mejor manera los TPH a una concentración de 5000 ppm seguido por 1000 ppm y finalmente 10000 ppm. (Andina, 2015) empleó *Sorghum bicolor* en su investigación, el mismo que tuvo una buena adaptabilidad y tolerancia a concentraciones de 40000 mg/kg, por lo que se podría decir que *Sorghum vulgare* no tiene gran desarrollo y tolerancia a concentraciones mayores de 5000 mg/kg, siendo las dos especies del mismo género y familia, pero con distinta capacidad de fitorremediación.

Figura 100

Análisis de varianza de la concentración de Sorghum vulgare

##		Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
##	Concentracion	3	477240151	159080050	2504	<2e-16 ***
##	Residuals	28	1778568	63520		

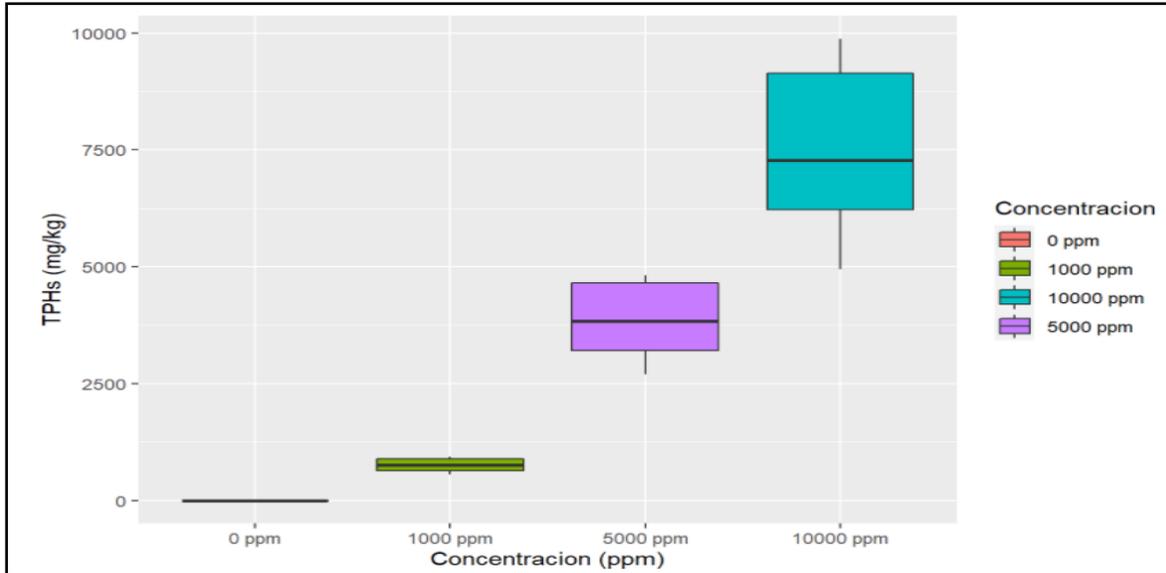
Nota. (Los autores,2021).

La fig.100 muestra un p-valor de 2e-16 el cual es menor a 0.05 lo que quiere decir que el valor de la diferencia entre las medias de concentración tiene significancia, lo que sugiere que la especie *Sorghum vulgare* va a depender de la concentración. Esto coincide con lo dicho por (Andina, 2015) que a concentraciones mayores de 55000 ppm su especie no sobrevivió, pero en bajos niveles tuvo una buena remoción y tolerancia al contaminante.

- *Panicum máximum jacq*

Figura 101

Concentracion de Panicum máximum jacq vs TPH.



Nota. La figura representa la relación entre los cambios de TPH en cada concentración que se utilizó el pasto (Los autores,2021).

Como se observa en la fig.101 *Panicum máximum jacq* redujo mayormente los TPH en la concentración 10000 ppm, seguido por 5000 ppm y finalmente 1000 ppm. (Rivera & Ferrera, 2003) mencionan que sometieron a esta planta a concentraciones de 98, 50000 y 100000 kg/mg siendo esta última donde mayor remoción existió. Es decir que a mayores concentraciones esta especie tiene mejor tolerancia y capacidad de fitorremediación.

Figura 102

Análisis de varianza de la concentración de Panicum máximum jacq

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Concentracion	3	282750624	94250208	89.72	1.8e-14 ***
## Residuals	28	29414984	1050535		

Nota. (Los autores,2021).

Como se denota en la fig.102 el p-valor es de $1.8e-14$ el cual es menor a 0.05, es decir que el valor de la diferencia entre las medias de concentración tiene significancia, lo que sugiere que la especie *Panicum máximum* jacq va a depender de la concentración.

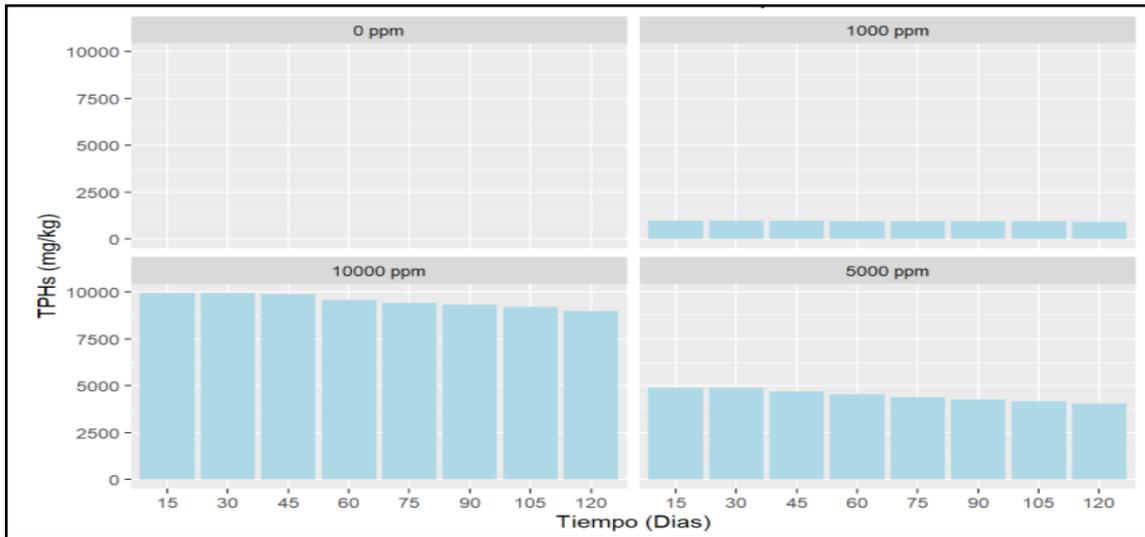
4.3.3. Análisis de TPH vs Tiempo.

En las siguientes figuras se presenta la variación del TPH a medida que transcurre el tiempo, asociándolo a cada concentración.

- *Zea mays*.

Figura 103

TPH vs tiempo.



Nota. La figura representa la relación entre los cambios de TPH en medida que transcurre el tiempo en las cuatro especies utilizadas (Los autores,2021).

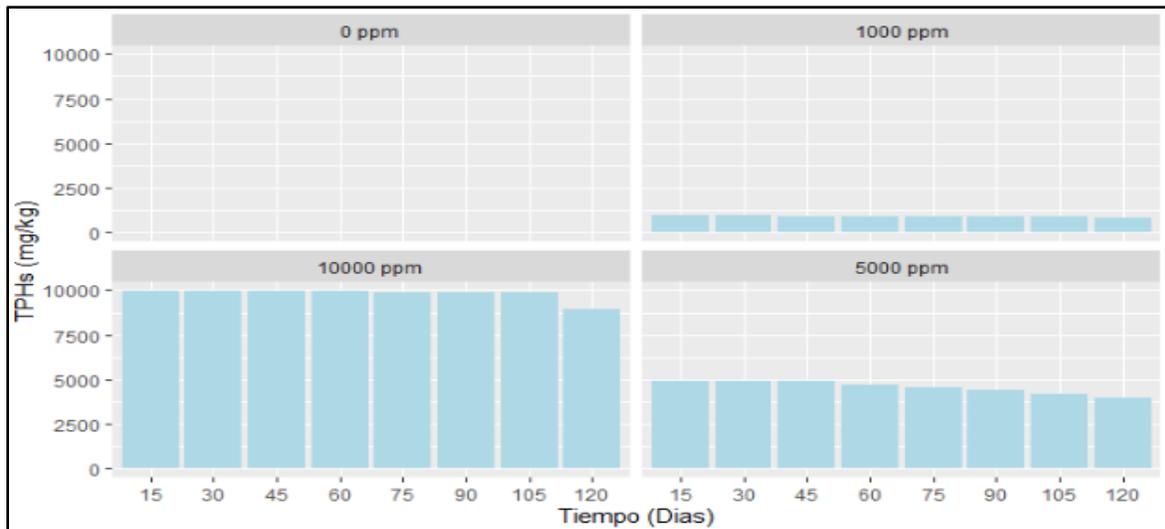
La especie *Zea mays* a través de los 120 días de duración del ensayo experimental refleja un descenso de TPH a medida que transcurre el tiempo, dicha reducción varía ligeramente especialmente en la concentración 1000 ppm. (Quiñonez y Ferrera, 2003) indica que la reducción de TPH fue evidente a partir del día 22 de su estudio, en la fig. 105 se observa una disminución

significante a partir de los 45 días, esta variación de tiempo pudo ser por el factor concentración ya que en su estudio mencionaron que se iniciaba con 4000 ppm y en este es con 5000 ppm.

- *Phaseolus vulgaris*.

Figura 104

TPH vs tiempo de Phaseolus vulgaris.



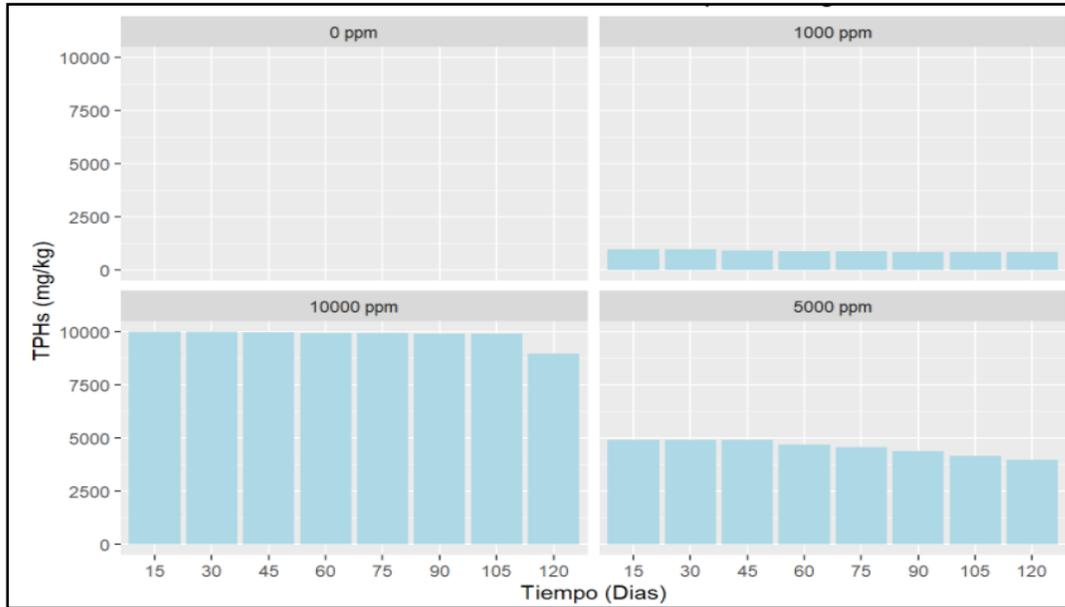
Nota. La figura representa la relación entre los cambios de TPH en medida que transcurre el tiempo en la especie *Phaseolus vulgaris* (Los autores,2021).

La especie *Phaseolus vulgaris* muestra como a través del tiempo que duró el ensayo experimental redujo los TPH notablemente. (Arias y Rivera, 2016) determina que a partir de los 35 días hubo un notable descenso del contaminante, por lo que se podría atribuir a la concentración o a factores ambientales (Coyago, 2013).

- *Sorghum vulgare*

Figura 105

TPH vs tiempo de Sorghum vulgare



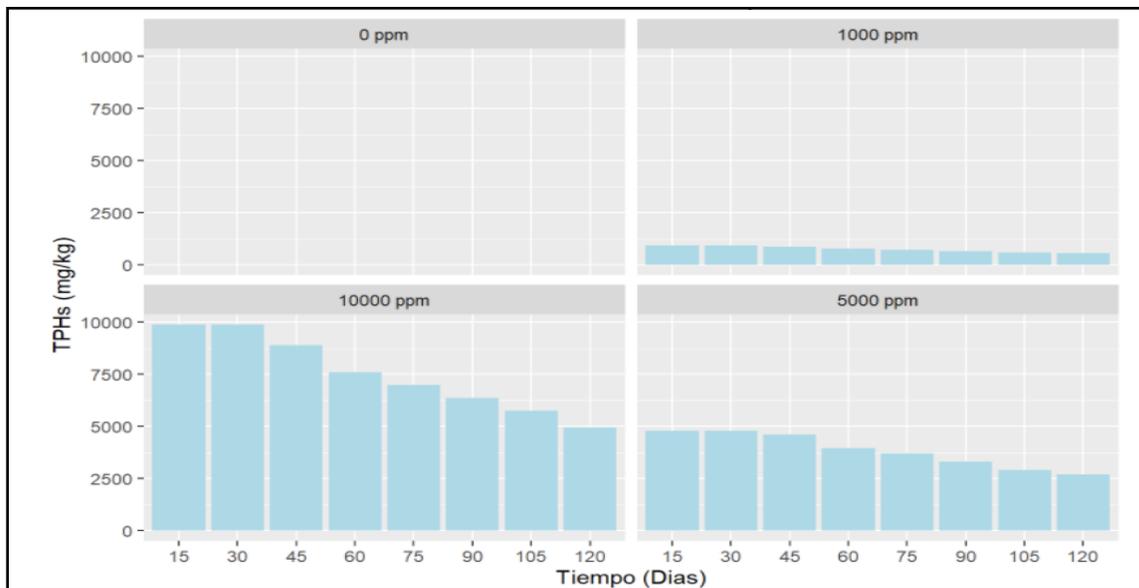
Nota. La figura representa la relación entre los cambios de TPH en medida que transcurre el tiempo en la especie *Sorghum vulgare*. (Los autores,2021).

La fig.105 indica como la especie *Sorghum vulgare* a medida que pasa el tiempo reduce ligeramente los TPH del ensayo experimental. Se aprecia un ligero descenso a partir del día 60, contrariamente a (Andina, 2015) que en el día 30 ya se percibe la reducción, esto puede deberse a la especie que utilizaron (*Sorghum bicolor*), la misma que presentó mayor degradación.

- *Panicum máximum jacq.*

Figura 106

TPH vs tiempo de Panicum máximum jacq.



Nota. La figura representa la relación entre los cambios de TPH en medida que transcurre el tiempo en la especie *Panicum máximum jacq* (Los autores,2021).

Se observa en el fig.106 que mientras más días transcurren la especie *Panicum máximum jacq* reduce significativamente los TPH. A los 45 días se aprecia el descenso del contaminante, ya que esta especie alcanza el desarrollo a partir de los primeros 30 días siendo este un factor de lenta degradación de TPH (Valencia y Navas, 2017), sin embargo, a partir del día 45 se observa una reducción significativa de hidrocarburo.

Figura 107

Análisis de varianza de especies vs Tiempo.

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Especie	3	1.192e+07	3.974e+06	8.409	3.96e-05 ***
## Tiempo	7	14163366	2023338	2.786	0.0324 *
## Residuals	21	15251618	726268		

Nota. (Los autores,2021).

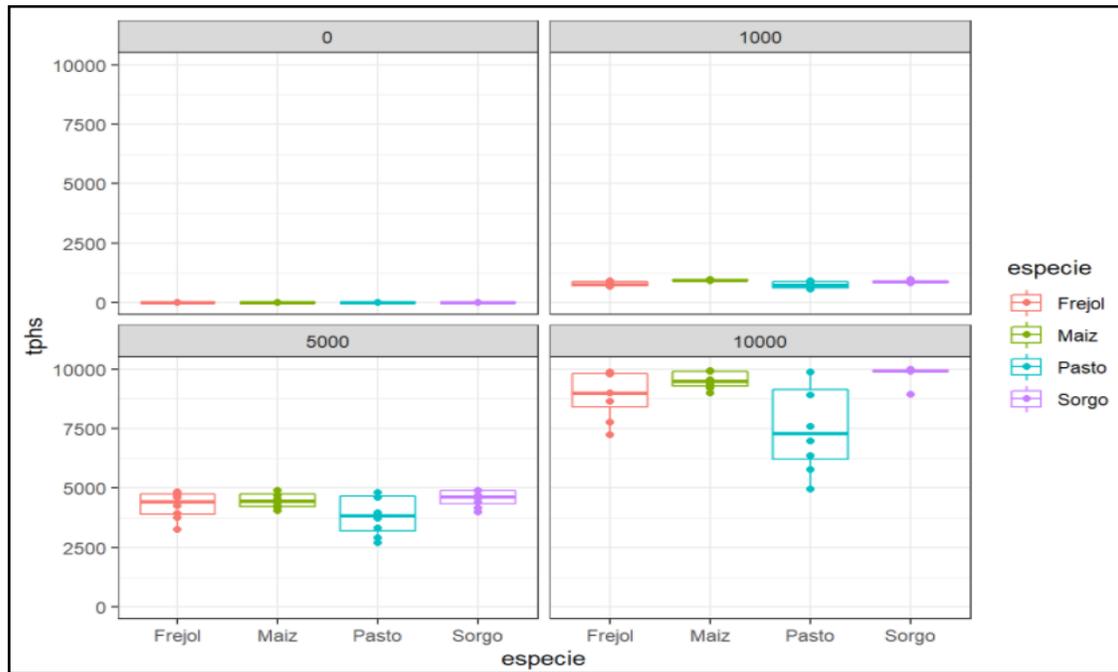
En la figura 107 los p-valor son de $3.9e-05$ y 0.032 los cuales son menores a 0.05 , determinando que el valor de la diferencia entre las medias de especie y tiempo tienen significancia, por lo que se presume que la reducción del contaminante va a depender de la planta y el tiempo que transcurre en su desarrollo.

Se apreció en las anteriores gráficas que la reducción de TPH varía en un tiempo diferente dependiendo de la especie vegetal.

4.3.4. Análisis de TPH vs especie.

Figura 108

TPH vs especies en cada concentración.



Nota. La figura representa la variación de TPH existente en cada especie y concentración (Los autores,2021).

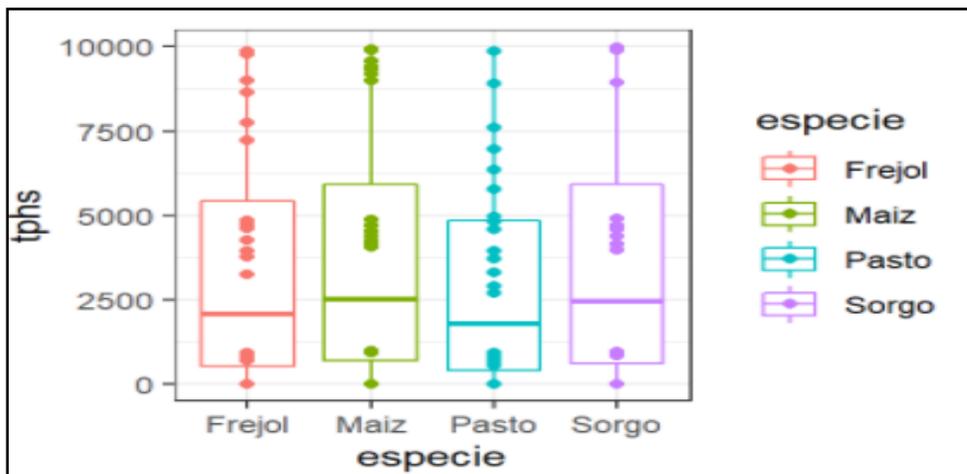
Como se puede observar claramente de la fig. 108 la especie *Panicum máximo jacq* es la que reduce mayoritariamente los TPH independientemente de cuál sea la concentración (1000,5000,10000).

Ante estos resultados se interpreta que dependiendo el tipo de especie vegetal los niveles de TPH descenden ya que no todas degradan por igual. Por tal razón no todas las plantas son tolerantes o tienen la capacidad de acumulación del contaminante ya que necesitan estrategias de detoxificación o resistencia, pudiendo excluir, reducir, solubilizar, acomplejar, acumular y redistribuir metales o hidrocarburos (Nuñez y Ortega, 2004).

(Delgadillo y Abelardo, 2011) mencionan que para un proceso de fitorremediación todo depende que planta se emplee, por tal razón existe tipos de plantas (hiperacumuladoras, bioacumuladoras) las mismas que deben cumplir con diversos parámetros para poder ser utilizadas correctamente en la descontaminación de suelos o agua a diferentes concentraciones, dependiendo el contaminante (metales, hidrocarburos, entre otros), ya que no todas pueden tolerar o degradar satisfactoriamente.

Figura 109

TPH vs especies.



Nota. La figura representa la variación de TPH existente en cada especie (Los autores,2021).

Como se aprecia en la fig.109 que indica de manera general que la especie vegetal *Panicum máximum jacq* es la que redujo mayoritariamente los TPH a comparación de *Phaseolus vulgaris*, *Zea mays* y *Sorghum vulgare* respectivamente.

4.3.5. % de remoción vs tratamientos.

Realizando un ANOVA y prueba Tukey al 5% se obtuvo los siguientes resultados:

- Análisis de Varianza.

Figura 110

Especie vs concentración.

##	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
## Especie	3	1.192e+07	3.974e+06	8.409	3.96e-05 ***
## Concentracion	1	1.584e+09	1.584e+09	3352.230	< 2e-16 ***
## Residuals	123	5.812e+07	4.725e+05		

Nota. (Los autores,2021).

El análisis de varianza observado en la fig. 110 con un p–valor en especie y concentración de 3.96e-05 y 2e-16 respectivamente, siendo estos menores a 0.05, se puede decir que el valor de la diferencia entre las medias de concentración y especie tienen significancia, por lo que se infiere que la interacción entre la especie vegetal y la concentración afecta en la reducción de TPH.

Esta interpretación tiene concordancia con (Prieto y Gónzales, 2009) quien manifiesta que las plantas utilizadas en fitorremediación van a depender del tipo de especie empleada y del grado de contaminación en el que se encuentren para lograr tolerar y degradar el metal o hidrocarburo.

Tabla 27

Resultados de la prueba Tukey al 5% y sus agrupaciones.

Tratamientos	concen_especie	Media \bar{x}	Grupos
T1	0_Zea mays	0	e
T2	0_Phaseolus vulgaris	0	e
T3	0_Sorghum vulgare	0	e
T4	0_Panicum máximum jacq	0	e
T5	1000_Zea mays	7.7	d
T6	1000_Phaseolus vulgaris	30.2	b
T7	1000_Sorghum vulgare	16.4	c
T8	1000_Panicum máximum jacq	43.8	a
T9	5000_Zea mays	18.96	d
T10	5000_Phaseolus vulgaris	35.1	b
T11	5000_Sorghum vulgare	20.32	c
T12	5000_Panicum máximum jacq	46.8	a
T13	10000_Zea mays	10.15	d
T14	10000_Phaseolus vulgaris	27.65	b
T15	10000_Sorghum vulgare	10.53	c
T16	10000_Panicum máximum jacq	50.47	a

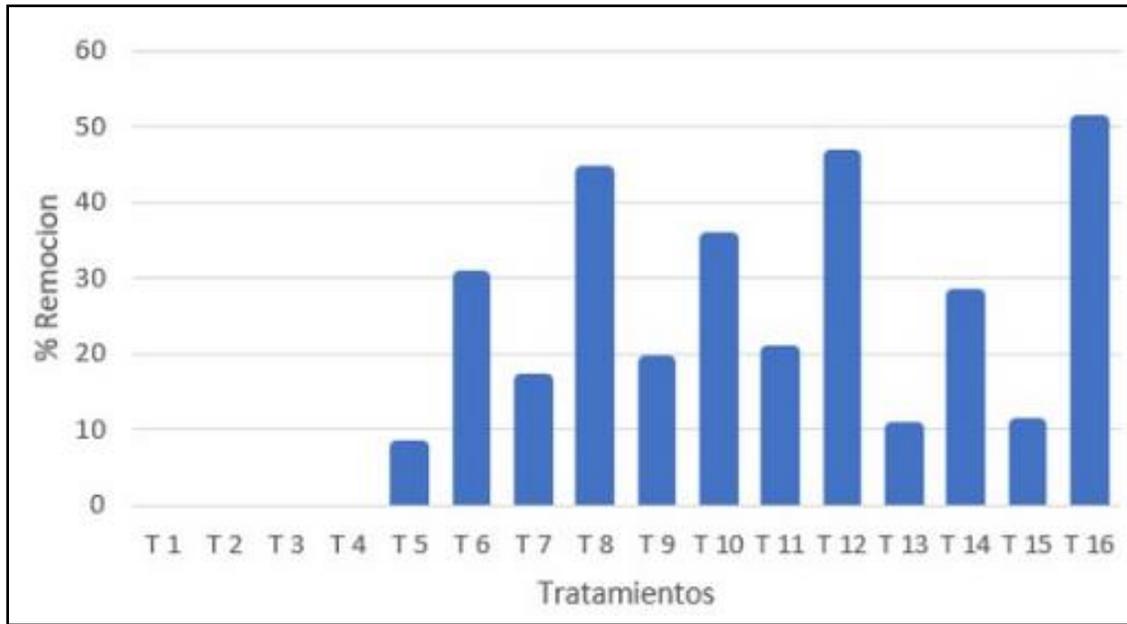
Nota. (Los autores,2021).

En la tabla 27 se evidencia los resultados de la prueba Tukey con un 95% de confianza los tratamientos que poseen un mejor resultado según la media más alta son T16, T8 y T12 respectivamente, los mismos que utilizan *Panicum máximum jacq* en concentraciones de 10000,5000 y 1000 ppm.

Por otro lado, los tratamientos con menor resultado son T5, T9 y T13 respectivamente, los que utilizan *Zea mays* en concentraciones de 1000,5000 y 10000 ppm.

Figura 111

% de remoción de los distintos tratamientos.



Nota. Se presenta los porcentajes de remoción de todos los tratamiento (Los autores,2021).

Determinando el % de remoción de cada tratamiento se puede inferir que *Panicum máximum* jacq a 10000 ,5000 y 1000 ppm tienen una remoción del 50.47%, 46.8% y 43.8% respectivamente.

(Mager y Hernández, 2013) utilizó *Panicum máximum* jacq para degradar un suelo contaminado al 3% y 6%, en donde obtuvieron una remoción del 46% y 63% respectivamente, confirmando que al utilizar esta gramínea existió una mayor degradación de hidrocarburo.

Según (Sangabriel et al., 2006) *Panicum máximum* jacq en su estudio es la especie que evidenció mayor cantidad de biomasa y la que mejor se adaptó a sus condiciones, esto se presentó en todas las concentraciones (10000, 25000 y 50000 mg/kg), por lo que determina que fue la especie más tolerante y con mayor capacidad de fitorremediación ante *Clitoria ternatea* y *Phaseolus coccineus*.

Tabla 28*%Remoción total por especie.*

tratamiento	concen_especie	% R	% R_total
T8	1000_Panicum máximo jacq	43.8	
T12	5000_Panicum máximo jacq	46.8	47.02
T16	10000_Panicum máximo jacq	50.47	
T6	1000_Phaseolus vulgaris	30.2	
T10	5000_Phaseolus vulgaris	35.1	30.98
T14	10000_Phaseolus vulgaris	27.65	
T7	1000_Sorghum vulgare	16.4	
T11	5000_Sorghum vulgare	20.32	15.75
T15	10000_Sorghum vulgare	10.53	
T5	1000_Zea mays	7.7	
T9	5000_Zea mays	18.96	12.27
T13	10000_Zea mays	10.15	

Nota. (Los autores,2021).

Se presentan los % de remoción total de los tratamientos de cada especie vegetal en sus concentraciones, observando las capacidades fitorremediadoras que obtuvieron dentro del ensayo experimental.

4.3.6. Cumplimiento de la normativa ecuatoriana.

Para conocer si las concentraciones obtenidas de TPH finalizando el estudio cumplen o no cumplen con la legislación ecuatoriana de los límites máximos permisibles en un suelo remediado de uso agrícola (tabla 7) se presenta a continuación los siguientes resultados.

Tabla 29*Cumplimiento o incumplimientos de los límites máximos permisibles*

Tratamientos	Concentración_Especie	TPHs_120 días	Límites máximos Permisibles
T1	0_Zea mays	0	Blanco
T2	0_Phaseolus vulgaris	0	Blanco
T3	0_Sorghum vulgare	0	Blanco
T4	0_Panicum máximum jacq	0	Blanco
T5	1000_Zea mays	923	Cumple
T6	1000_Phaseolus vulgaris	698	Cumple
T7	1000_Sorghum vulgare	836	Cumple
T8	1000_Panicum máximum jacq	562	Cumple
T9	5000_Zea mays	4052	No Cumple
T10	5000_Phaseolus vulgaris	3245	No Cumple
T11	5000_Sorghum vulgare	3984	No Cumple
T12	5000_Panicum máximum jacq	2696	No Cumple
T13	10000_Zea mays	8985	No Cumple
T14	10000_Phaseolus vulgaris	7235	No Cumple
T15	10000_Sorghum vulgare	8947	No Cumple
T16	10000_Panicum máximum jacq	4953	No Cumple

Nota. (Los autores,2021)

Como se aprecia en la tabla 29 los suelos contaminados a concentraciones de 5000 y 10000 ppm después de aplicar la técnica de fitorremediación no logran alcanzar los límites máximos permisibles ya que sus valores sobrepasan los 2500 mg/kg que estipula la legislación ecuatoriana.

4.3.7. Relación Costos- Beneficio respecto a la especie vegetal.

A continuación, se presenta las tablas de costos del ensayo experimental respecto a la preparación del terreno, siembra y mantenimiento de cada especie.

Tabla 30

Costos de las actividades para la preparación del terreno y mantenimiento de las especies vegetales.

Actividades		Materiales	Unidades	Costo U	Total		
Control de plagas	Preparación del terreno	Barras	1	\$ 21.00	\$ 21.00		
		Machete	1	\$ 6.00	\$ 6.00		
		Rastrillo	1	\$ 9.25	\$ 9.25		
		Palas	1	\$ 12.00	\$ 12.00		
		Guantes	5	\$ 2.50	\$ 12.50		
		Flexómetro	1	\$ 5.00	\$ 5.00		
		Alquiler de motoguadaña	2 días	\$ 10.00	\$ 20.00		
		azadón	1	\$ 13.76	\$ 13.76		
		Trabajadores	7	\$ 20.00	\$ 140.00		
	Siembra	maíz	2 kg	\$ 1.00	\$ 2.00		
		Frejol	2 kg	\$ 1.25	\$ 2.50		
		Sorgo	1kg	\$ 24.50	\$ 23.50		
		Pasto	1 kg	\$ 18.50	\$ 18.50		
	Muestreo de suelo	Barrenadora manual	1	\$ 14.55	\$ 14.55		
		Fundas Ziploc	8 paquetes	\$ 3.50	\$ 28.00		
	Requerimientos Nutricionales	maíz	Marcadores	1	\$ 1.25	\$ 1.25	
			NP 16-20-0	3 lb	\$ 4.50	\$ 13.50	
		Frejol	Quimifer 10-30-10	1 lb	\$ 3.85	\$ 3.85	
			Urea 46-0-0	2 lb	\$ 3.20	\$ 6.40	
		Sorgo	Urea 46-0-0	2 lb	\$ 3.20	\$ 6.40	
			Nitrato de Amonio	1 lb	\$ 2.10	\$ 2.10	
		Pasto	Sulfato de Amonio	1 lb	\$ 2.25	\$ 2.25	
			Urea 46-0-0	2 lb	\$ 3.20	\$ 6.40	
		Control de plagas	maíz	Alquiler Bomba			
				Mochila	2	\$ 5.00	\$ 10.00
	Frejol		Gryben Duo	1 kg	\$ 10.25	\$ 10.25	
	Sorgo						
Pasto	Alquiler Bomba						
	Mochila	2	\$ 5.00	\$ 10.00			
Total					\$ 387.20		

Nota. La tabla presenta los materiales y costos respectivos de cada actividad para la preparación de terreno y mantenimiento de las especies vegetales. (Los autores, 2021).

La tabla 30 representa de manera general los costos de cada material utilizado para el desarrollo del ensayo experimental respecto a la preparación del terreno, toma de muestras y el mantenimiento de las cuatro especies vegetales estudiadas.

Tabla 31

Costo - Beneficio respecto a la especie vegetal.

Actividades	<i>Zea mays</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	<i>Sorghum vulgare</i>	<i>Panicum máximum jacq</i>
Semilla	\$2.00	\$2.50	\$24.50	\$18.50
Requerimientos Nutricionales	\$13.50	\$10.25	\$10.75	\$6.40
Control de Plagas	\$10.25	\$10.25	\$10.25	\$10.25
Total	\$25.75	\$23.00	\$45.50	\$35.15

Nota. La tabla presenta los costos por cada especie, durante su crecimiento y desarrollo. (Los autores, 2021).

En la tabla 31 la especie *Phaseolus vulgaris* es la que presenta menor costo de inversión dentro del estudio, la misma que presentó una remoción de TPH de 30.98% siendo aceptable su costo- beneficio, a diferencia de *Sorghum vulgare* que los gastos para su desarrollo fueron superiores con respecto a las otras especies y presentó una remoción del 15.75%, observando que su costo- beneficio no es rentable por su alta inversión y baja remoción del contaminante. Sin embargo, *Panicum máximum jacq* es la especie óptima para tolerar y remover el crudo y su relación costo- beneficio viene a ser rentable para un estudio de fitorremediación con dicha especie.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

- Las especies *Sorghum vulgare*, *Phaseolus vulgaris* y *Zea mays* tuvieron una mejor reducción de TPH en la concentración 5000ppm, a diferencia de *Panicum máximum jacq* que redujo mayormente en la concentración 10000 ppm.
- La especie vegetal con mayor capacidad de fitorremediación fue *Panicum máximum jacq*, removiendo un 47% de TPH, seguido por *Phaseolus vulgaris* con 30.98%, *Sorghum vulgare* 15.75% y finalmente *Zea mays* con 12.27%.
- Las especies gramíneas (*Panicum máximum jacq* y *Zea mays*) fueron las más tolerantes al crudo que las leguminosas (*Phaseolus vulgaris* y *Sorghum vulgare*) ya que tuvieron una mejor adaptabilidad y desarrollo en las diferentes concentraciones.
- Estadísticamente se evidenció que las variables biomasa aérea (tallo, hojas) y radicular (raíz) tienen relación con la remoción de TPH, a diferencia de las variables de altura, diámetro, número de hojas, flores y frutos; las cuales no presentaron significancia.
- Se evidenció en el estudio una interacción planta-microorganismos, produciendo un efecto rizosféricos, este comportamiento se observó de mejor manera en las especies *Panicum máximum jacq* y *Phaseolus vulgaris* respectivamente, ya que existió un mayor crecimiento de UFC en los diferentes tratamientos en los que se empleó dichas plantas.
- No se llegaron a cumplir con los máximos permisibles que estipula la legislación ecuatoriana de criterios de remediación en un suelo agrícola en las concentraciones 5000 y 10000 ppm ya que en el estudio se trabajó con una concentración de 1000 ppm la misma que se considera aceptable dentro de los límites permisibles.

- Se acepta la hipótesis alternativa (H1) y se rechaza la hipótesis nula (H0) debido a que las 4 especies vegetales estudiadas tienen distinta tolerancia y capacidad de fitorremediación entre sí.

5.2. Recomendaciones.

- Se recomienda utilizar *Panicum máximum* jacq para futuros estudios de fitorremediación en concentraciones mayores de TPH a las ya analizadas.
- Tener siempre en cuenta que cada especie presenta plagas y enfermedades durante sus fases de crecimiento, por ende, mantener un seguimiento adecuado.
- Al momento de emplear la técnica de fitorremediación se debe tomar en cuenta las especies que cumplan con las mejores condiciones del área de estudio o sean propias del lugar, tomando en cuenta factores fisicoquímicos y ambientales.
- Se recomienda que al realizar un estudio similar se evalúe la parte de la especie vegetal en donde se acumule mayormente el contaminante, con la finalidad de conocer si la planta realizó una Fitoextracción (tallos, hojas) o rizodegradación (raíz).
- Si se quiere conocer el porcentaje real de remoción de una especie vegetal sin la intervención de microorganismos, es necesario realizar un experimento a escala laboratorio y autoclavar el suelo a emplear.

6. BIBLIOGRAFÍA

(s.f.).

Microbiología general. (2020). Siembra, aislamiento e identificación de microorganismos.

Acosta, B. (01 de 2021). *Ecología Verde*. Obtenido de <https://www.ecologiaverde.com/partes-de-la-raiz-y-sus-funciones-2777.html>

Alba, G. (2011). *repositorio institucional*. Obtenido de <https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/221/1/Comparaci%C3%B3n%20de%20la%20Electrorremediaci%C3%B3n%20de%20Suelo%20Tipo%20Gleysol%20Contaminado%20con%20Hidrocarburo%20con%20el%20m%C3%A9todo%20de%20lavado%20con%20Trit%C3%B3n%20X-11>

Albán, G. (2011). *repositorio nacional*. Obtenido de <https://cideteq.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1021/221/1/Comparaci%C3%B3n%20de%20la%20Electrorremediaci%C3%B3n%20de%20Suelo%20Tipo%20Gleysol%20Contaminado%20con%20Hidrocarburo%20con%20el%20m%C3%A9todo%20de%20lavado%20con%20Trit%C3%B3n%20X-11>

Alvarado, M. (06 de 2014). EVALUACIÓN AGRONÓMICA DE 10 HÍBRIDOS DE SORGO (*Sorghum bicolor* L. Moench) EN LA ZONA DE JULIO MORENO, PROVINCIA DE SANTA ELENA. Guayas, Ecuador.

American Society for testing and Materials. (1994). *Annual book of Standards. Determinación de potasio en agua. Método ASTM D 2791-93*. Obtenido de <<http://arturobola.tripod.com/potasio.htm>>.

Andina, S. (2015). Biorremediación de suelo contaminado con 55000 y 65000 de aceite residual automotriz y fitorremediación con *Sorghum bicolor*. *JSAB*.

Andrades, M., Molier, A., & Masaguer, A. (2015). *Pràcticas de Edafologia*. España: Universidad de la Rioja.

Aquihuatl, M. (2017). Ecología Microbiana Ecología Mi. Mexico. Obtenido de <http://agro.unc.edu.ar/~microbiologia/wp-content/uploads/2014/04/unidad-4-ecologia.pdf>

Arias, A., & Rivera, C. (2016). FITOTOXICIDAD DE UN SUELO CONTAMINADO CON PETRÓLEO FRESCO SOBRE *Phaseolus vulgaris* L. (LEGUMINOSAE). *Rev. Int. Contam. Ambie.*

Asociacion Española de Operadores de Productos Petroliferos. (2002). *enerclub*. Obtenido de https://www.enerclub.es/extfrontenerclub/img/File/nonIndexed/petroleo/secciones/pdf/caps_todos/AOP%20FICHAS%20DIDACTICAS.pdf

Barbaro, L., Karlanian, M., & Mata, D. (2014). *Importancia del pH y la conductividad eléctrica (CE) en los sustratos para plantas*. INTA.

Barcenas, M., & Yáñez, P. (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*, 27.

- Basantes, E. (2015). *MANEJO DE CULTIVOS ANDINOS DEL ECUADOR*. Quito: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE.
- Bernal, M., & Clemente, R. (11 de 2007). Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/540/54016208.pdf>
- Bernal, R. C., Vasquez, S., & Walker, D. (2007). Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. *Ecosistemas*, 8. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/36027831.pdf>
- Bravo, A. (2012). El Maíz en el Ecuador. *Semillas*.
- Cabrera, C., & Reyes, C. (2018). GUÍA TÉCNICA PARA EL MANEJO DE VARIEDADES DE FRIJOL. *Ministerio de Agricultura y ganadería*, 6-18.
- Cándido, E. (2013). EVALUACIÓN DEL POTENCIAL FITORREMEDIADOR DE *Phaseolus vulgaris*, *Triticum vulgare* y *Helianthus annuus*.
- Cando, M. (2011). *dspace*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1520/11/UPS-CT002143.pdf>
- Cano, M. A. (2011). INTERACCIÓN DE MICROORGANISMOS BENÉFICOS EN PLANTAS: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. *Actualidad & Divulgación Científica*, 15-16. Obtenido de <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/771/845>
- Carbonell, N. (2019). *unr*. Obtenido de https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/183670/mod_resource/content/1/2019%20TP3%20FARMACIA.pdf
- Carrasco, D. (04 de 2017). *Aislamiento e identificación de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos, comprobando su actividad enzimática*. Quito.
- Castebianco, J. (2015). *repositorio*. Obtenido de <file:///C:/Users/jessy/AppData/Local/Temp/2015-Article%20Text-13008-4-10-20180717.pdf>
- Castillo, I., & Pérez, J. (2006). Asimilación de cadmio y plomo por tabaco cv. en un suelo contaminado artificialmente. *Centro Agrícola*.
- Catellanos, M., & Isaza, R. (2015). *scielo*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v44n3/v44n3a02.pdf>
- Cercenado, E., & Cantón, R. (2010). *Metodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*. Seimc.
- Cerdas, R., & Vallejos, E. (8 de 09 de 2011). Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/666/66622603003.pdf>
- Cherian, S., & Oliveira, M. (2005). Transgenic plants in phytoremediation: recent advances and new possibilities. *Environmental Science & Technology*, 39, 9377-9390.

- Ciancaglini, N. (s.f.). Obtenido de http://www.prosap.gov.ar/Docs/INSTRUCTIVO%20_R001_Guía%20para%20la%20determinación%20de%20textura%20de%20suelos%20por%20método%20organoléptico.pdf
- Clemente, R., & Bernal, M. (2007). Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados en Aznalcóllar . *Ecosistemas*.
- Coyago, E. (2013). ESTUDIO PARA TRATAMIENTOS DE BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PLOMO, UTILIZANDO EL MÉTODO DE FITORREMEDIACIÓN. *La granja*.
- Cruz, J., & Lincango, J. (03 de 2021). Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19882/1/UPS%20-%20TTS283.pdf>
- Davis, L., & Catro, S. (2002). Benefits of vegetation for soils with organic contaminants. *Plantsci*.
- Delgadillo, A. E., González, C. A., Prieto, F., Villagómez, J. R., & Acevedo, O. (2011). FITORREMEDIACIÓN: UNA ALTERNATIVA PARA ELIMINAR LA CONTAMINACIÓN. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 605. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/tsa/v14n2/v14n2a2.pdf>
- Delgadillo, A., & Abelardo, C. (2011). FITORREMEDIACIÓN: UNA ALTERNATIVA PARA ELIMINAR LA CONTAMINACIÓN . *Tropical and subtropical agrosistem*.
- Denys, S., Rollin, C., Guillot, F., & Baroudi, H. (2006). InSitu Phytoremediation of Pahs Contaminated Soils Following a Bioremediation Treatment. *Water, Air, & Soil Pollution*. . *Plant Biotechnology*, 299-315.
- Deras, H. (2020). Obtenido de <http://repiica.iica.int/docs/b3469e/b3469e.pdf>
- Dietz, A., & Schnoor, J. L. (2001). Advances in phytoremediation. . *Environmental Health Perspectives*, 163-168.
- Domingo, A. (2012). *Técnicas de toma y remisión de muestras de suelos*. Buenos Aires: INTA.
- Dushenkov, V., Kumar, P., Motto, H., & Raskin, I. (1995). Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environmental Science Technology*, 1239-1245.
- Escalante, R. (2007). *BIODEGRADACIÓN DE CRUDO DE PETROLEO EN TERRARIOS*. Obtenido de https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/escalante_g_r/cap2.htm
- Escobar, J., & Reol, N. (2002). EL PETRÓLEO EL RECORRIDO DE LA ENERGÍA. Madrid: E.i.S.E. Domènech, S.A.
- Etcheverria, P., & Barahona, V. (2018). *redagricola*. Obtenido de <https://www.redagricola.com/cl/el-secuestro-de-carbono-en-los-suelos/>
- Facultad de Ciencias Agropecuarias. (04 de 2014). Obtenido de <http://agro.unc.edu.ar/~microbiologia/wp-content/uploads/2014/04/unidad-4-ecologia.pdf>
- Fernández, L., Roja, N., Roldán, T., Ramírez, M., Zegarra, H., Uribe, R., . . . Arce, M. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. México:

Instituto Mexicano del Petróleo, Secretaría de Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología.

- Fernández, L., Rojas, N., Roldán, T., Ramire, M., & Zegarra, H. (2006). *semarnat*. Obtenido de <https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/Libros2011/CG008215.pdf>
- Fernández, M. (2020). *adeagro*. Obtenido de <https://ideagro.es/la-importancia-de-las-bacterias-solubilizadoras-de-fosforo-en-agricultura/>
- Fernandez, O., & Leyter, S. (12 de 2006). *docplayer*. Obtenido de <https://docplayer.es/123808232-Centro-agricola-ano-33-no-4-oct-dic-2006-comite-de-arbitraje-universidad-central-marta-abreu-de-las-villas-arbitros-internacionales.html>
- Frías, C., & Angella, G. (2016). *INTA*. Obtenido de https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_conceptos_basicos_de_las_relaciones_agua_suelo_planta.pdf
- Gamarra, G., & Munive, R. (2019). Absorción de plomo y cadmio por girasol de un suelo contaminado y remediado. *Scientia Agropecuaria*.
- Garzón, J. M., Rodríguez Miranda, J. P., & Hernández Gómez, C. (11 de Agosto de 2017). Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible. *Universidad y Salud ARTÍCULO DE REVISIÓN*, 8-9.
doi:<http://dx.doi.org/10.22267/rus.171902.93>
- Gomez, M. (2015). Obtenido de https://prezi.com/0-ox5ces5_md/historia-de-la-fitorremediacion/?frame=d9901dcedbc6f2982391d8b8fd7dfed6575115fd
- Gutierrez, J. (2003). *EL CULTIVO DE SORGO (Sorghum Vulgare Spp.)*. MÉXICO: M O N O G R A F Í A PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE: INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN.
- Guzmán, A., Sánchez, S., Flores, D., Quevedo, N., & Valdés, R. (2005). *La Biorremediación, un método para descontaminar áreas agrícolas*. Universidad Agraria de La Habana Fructuoso Rodríguez Pérez.
- Hernández, J., & Barbazán, M. (2010). *FAGRO*. Obtenido de <http://www.fagro.edu.uy/~fertilidad/curso/docs/Potasio.pdf>
- Hontoria, C., & Rodriguez, J. (2004). CONTENIDO DE CARBONO ORGÁNICO EN EL SUELO Y FACTORES DE CONTROL. *EDAALFOLOGIA*.
- Instituto Latinoamericano de la Comunidad Educativa . (2021). Obtenido de http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/39/html/sec_8.html
- Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. (07 de 2018). *repositorio INIAP*. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5451/1/Estudios%20de%20casos%20sobre%20Olos%20suelos%20en%20fincas%20cafetaleras%2C%20cacaoteras%20y%20ganaderas%20en%20la%20amazonia%20ecuatoriana.pdf>

- INTAGRI. (2017). Obtenido de <https://www.intagri.com/articulos/nutricion-vegetal/sintomas-visuales-de-deficiencia-de-fosforo-en-los-cultivos>
- INTAGRI. (2017). *Fijacion del potasio en el suelo*. Obtenido de <https://www.intagri.com/articulos/suelos/fijacion-de-potasio-en-el-suelo>
- Interstate Technology Regulatory Council. (2001). Phytotechnology. Technical and Regulatory Guidance Document. *Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group Phytotechnologies*.
- Ismael, H., & Navas, g. (Noviembre de 2016). *Scielo*. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v33n3/0188-4999-rica-33-03-495.pdf>
- Iturbe, R., & Flores, C. (2001). Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopila. *revista ingenieria*.
- jara, E., & Gómez, J. (2014). *Capacidad fitorremediadora de cinco especies altoandinas de suelos contaminados*. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v21n2/a04v21n2.pdf>
- Juteau-Martineau, G., Becerra, S., & Maurice, L. (2018). Ambiente, petróleo y vulnerabilidad política en el Oriente Ecuatoriano: ¿hacia nuevas formas de gobernanza energética? *Universidad de Salamanca*, 119-137.
- Komives, T., & Gullner, G. (2005). Phase I xenobiotic metabolic systems in plants. *Z Naturforsch.*, 179-185.
- Kumar, P., Dushenkov, V., H., M., & Raskin, L. (1995). *Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils*. Environ. Sci. Technol.
- Lin, Z., de-Souza, M., Pickering, J., & Terry, N. (2002). Evaluation of the macroalga, *Chara canescens*, for the remediation of seleniumcontaminated agricultural drainage by microcosms. *Journal of Environmental*, 2104-2110.
- Llorca, R., & Bautista, I. (2004). *Prácticas de atmósfera, suelo y agua*. México: Alfaomega.
- Lobo, M., & Diaz, O. (2001). Manual de Agrostología. *EUNED*, 176.
- López. (2001). *Establecimiento, Producción y Manejo del Pasto Guinea (Panicum maximumJacq.)*. México: Monografía, Lic. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coh.
- López, M., Martínez, J., & Argüello, E. (2013). *FITORREMIACIÓN: UNA ESTRATEGIA TECNOLÓGICA PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS EN EL SURESTE*. CHONTALPA: Agricultura.
- Lumelli, M. (2002). *Fitorremediación. Alcances y aplicación en el agro ecosistema argentino. Parte 1*. Argentina: Estructplan Consultora S.A.
- Mager, D., & Hernández, I. (2013). Actividad microbiana durante la fitorremediacion de un suelo contaminado con un crudo liviano. *Agron*.
- Maroto, J. (1998). *Horticultura herbácea especial*. Madrid: Mundi-Prensa.

- Marquez, R. (2014). *Análisis de Laboratorio, Estudio de Suelo*. Obtenido de http://webdelprofesor.ula.ve/ingenieria/marquezronald/wpcontent/uploads/An_341lisis-Laboratorio.pdf.
- Martínez, A., & Pérez, E. (2011). BIORREMEDIACIÓN DE SUELO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS EMPLEANDO LODOS RESIDUALES COMO FUENTE ALTERNA DE NUTRIENTES. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v27n3/v27n3a9.pdf>
- Martinez, A. (2007). *PROPUESTA DE GUÍA DE APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE MICROBIOLOGÍA (BACTERIAS Y HONGOS) PARA SER UTILIZADO EN MICROBIOLOGÍA GENERAL*. EL SALVADOR: FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA.
- Martinez, D., Alvarez, P., & Valle, H. (09 de 2009). *IICA*. Obtenido de <http://repiica.iica.int/DOCS/B2170E/B2170E.PDF>
- Martinez, V., & Lopez, F. (2011). *Terra Latinoamericana*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/573/57319102.pdf>
- MATE. (08 de 2018). *ambiente*. Obtenido de <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2018/09/Constitucion-de-la-Republica-del-Ecuador.pdf>
- Mejía, R., & Herrera, D. (09 de 2012). *Repositorio UNAM*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/4927/1/93537.pdf>
- Méndez Valdiviezo, E. (2016). *VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO WALKLEY Y BLACK DE MATERIA ORGÁNICA EN SUELOS ARCILLOSOS, FRANCOS Y ARENOSOS DEL ECUADOR*. Quito: UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR .
- Mentaberry, A. (2011). *Fitorremediación, Agrobiotecnología, Curso 2011*. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires.
- Mercado, G., Cardi., Angueta, V., Dominguez, C., Orellana, A., Maradiaga, F., . . . Mostacero, E. (2018). *Nuestras legumbres PEQUEÑAS SEMILLAS, GRANDES SOLUCIONES*. Panamá: FAO.
- Montenegro, S., Pulido, S., & Calderón, L. (2009). *Prácticas de biorremediación en suelos y aguas*. Bogotá: PRODUCCIÓN SOSTENIBLE.
- Morales, J., & Serrano, V. (2019). *dspace*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16960/1/UPS-ST003960.pdf>
- Munive, R., & Figueroa, O. (23 de 11 de 2018). *scielo*. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v9n4/a11v9n4.pdf>
- Muñoz, L., Nevárez, G., Ballinas, M., & Peralta, M. (2010). Fitorremediación como una alternativa para el tratamiento de suelos contaminados. *Revista Internacional de Ciencia y Tecnología Biomedica*, 5. Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/31745623/Fitorremediacion_como_una_alternativa_para_el_tratamiento_de_suelos_contaminados-with-cover-page.pdf?Expires=1622234553&Signature=Kht9SPCxnkBN3kGKiDPXCIkx6GwTQVyNctLMbh48zYzvJc8s5GhNrGibBndWozqrDX419EKMenmYph

- Navarro, P., I., A., & López, J. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 10-25.
- Nuñez, R., & Borges, R. (09 de 2004). *revistaciencia*. Obtenido de https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/55_3/Fitorremediacion.pdf
- Nuñez, R., & Ortega, R. (2004). Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. *Biotecnología y Biología molecular*.
- Núñez, R., Vong, Y. M., Ortega, R., & Olgún, E. J. (2004). Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones. *Biotecnología y biología molecular*, 70.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2008). Obtenido de <https://www.fao.org/3/i6467s/i6467s.pdf>
- Ortigoza, J., López, C., & Gonzalez, D. (2019). *Guía técnica cultivo de maíz*. Paraguay: Proyecto Paquetes Tecnológicos.
- Panreac Química, S. (2020). Determinación de Nitrógeno por el Método Kjeldahl. Obtenido de [//www.panreac.es/pdf/determinacion_nitrogeno_esp.pdf](http://www.panreac.es/pdf/determinacion_nitrogeno_esp.pdf).
- Peña, K., & Carrillo, M. (2011). *MAG*. Obtenido de https://balcon.mag.gob.ec/mag01/magapaldia/Caja%20de%20Herramientas_Cadmio_Cacao/Guia_13.pdf
- Pereira, C., Maycotte, C., Restrepo, B., Calle, A., & Velarde, M. (2011). *EDAFOLOGIA 1* (primera ed.). Caldas, Colombia.
- Pérez, G., García, E., & Esparza, F. (2002). Papel ecológico de la flora rizosférica en fitorremediación. *Accelerating the world's research*, 3. Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/34841574/Avance_y_Perpectiva_2002-with-cover-page.pdf?Expires=1622312657&Signature=dRCfAmjipMhbpMaf08RjxlfIAfJBcm0b~3Z89fw88PdJ6m6jEUN1rdoTTnZN-kZKfRnQMocguIW~Ezem0aQzDrpxZib4kfZSezKymCelgp6xBzslUMclwhOEdP0FeUTcQBznHA
- Perez, J., & Guerra, A. (2008). *docplaye*. Obtenido de <https://docplayer.es/18558158-Universidad-hermanos-saiz-montes-de-oca-pinar-del-rio-cuba.html>
- PETROECUADOR, E. (06 de 2013). el petróleo ecuador en el Ecuador la nueva era. En E. PETROECUADOR. Quito. Obtenido de <https://www.eppetroecuador.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/03/El-Petróleo-en-el-Ecuador-La-Nueva-Era.pdf>
- Pindado, O., Perez, R., & García, S. (2014). *Análisis del TPH y las Fracciones de Hidrocarburos Alifáticos y Aromáticos en Matrices de Interés Medioambiental*. Madrid: CIEMAT.
- Prasad, M., & Freitas, H. (2003). Metal hyperaccumulation in plants- biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Journal of Molecular Biology Genetics*, 276-312.
- Prieto, J., & Gonzáles, C. (2009). CONTAMINACIÓN Y FITOTOXICIDAD EN PLANTAS POR METALES PESADOS PROVENIENTES DE SUELOS Y AGUA. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*.

- Prieto, J., & Gónzales, C. (2009). CONTAMINACIÓN Y FITOTOXICIDAD EN PLANTAS POR METALES PESADOS PROVENIENTES DE SUELOS Y AGUA. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*.
- Quiñonez, E., & Ferrera, R. (2003). EMERGENCIA Y CRECIMIENTO DE MAÍZ EN UN SUELO CONTAMINADO CON PETRÓLEO CRUDO. *Agrociencia*.
- Quiroa, M. (10 de Diciembre de 2019). *Economipedia*. Obtenido de <https://economipedia.com/definiciones/petroleo.html>
- RAHOE. (09 de 2010). Obtenido de <https://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/RAOHE-DECRETO-EJECUTIVO-1215.pdf>
- Ramírez, O., Hernández, A., Carneiro, S., Pérez, J., Francisco, J., Raymuno, A., . . . Cervantes, A. (2009). Acumulación de forraje, crecimiento y características estructurales del pasto Mombaza (*Panicum máximum* Jacq.) cosechado a diferentes intervalos de corte. *Revista Técnica Pecuaria*. Vol. 47 N° 2, 203-213.
- Reichenauer, .., & Germida, J. J. (2008). Phytoremediation of organic contaminants in soil and groundwater. *ChemSusChem*, 708-717.
- Reyes, M., & Casanova, E. (2018). *Scielo*. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v34n4/0188-4999-rica-34-04-597.pdf>
- Rivera, M., & Ferrera, R. (2003). DESCONTAMINACIÓN DE SUELOS CON PETRÓLEO CRUDO MEDIANTE MICROORGANISMOS AUTÓCTONOS Y PASTO ALEMÁN. *Agrociencia*.
- Rodríguez, I. (2013). *tesisenred*. Obtenido de <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/128510/TIRA.pdf?sequence=1>
- Ruiz, L. (02 de 2013). Modelos alométricos para la estimación de biomasa y carbono en *Alnus acuminata*. *Revista de Ciencias Ambientales*.
- Saad, I., Castillo, J., & Rebolledo, D. (2009). Fitorremediación: estudio de inteligencia tecnológica competitiva. *Universidad Nacional Autónoma de México*, 1-13.
- Sangabriel, W., Ferrera, R., & Trejo, D. (2006). TOLERANCIA Y CAPACIDAD DE FITORREMEDIACIÓN DE COMBUSTÓLEO EN EL SUELO POR SEIS ESPECIES VEGETALES. *Contaminación ambiental*.
- Schnoor, J., Licht, L., McCutcheon, S., Wolfe, L. N., & Carreira, L. H. (1995). *Phytoremediation of organic and nutrient contaminants*. *Environmental Science Technology*.
- Schwille. (2009). *pollution in porous media by fluids immiscible with water*. Obtenido de [http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697\(81\)90150-9](http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697(81)90150-9).
- Tacuarembó, I. (20 de 05 de 2015). Obtenido de <http://inia.uy/Documentos/Públicos/INIA%20Tacuarembó/2015/EI%20Suelo%2020%20de%20mayo.pdf>
- Torres, W. (24 de 12 de 2020). Este año Ecuador producirá 80.000 barriles diarios de petróleo menos. Obtenido de <https://www.primicias.ec/noticias/economia/ecuador-producira-menos-petroleo-china/>

- TULSMA. (2015). Obtenido de <http://ecuadorforestal.org/wp-content/uploads/2010/05/Libro-VI-Calidad-Ambiental.pdf>
- USDA. (1999). *Diagrama textural de la USDA*. Valencia: Universidad Politècnica de Valencia.
- Valencia, I., & Navas, G. (2017). FITORREMIEDIACIÓN DE UN SUELO CONTAMINADO CON PETRÓLEO EXTRA PESADO CON *Megathyrus maximus*. *contaminacion ambiental*.
- Valladares, C. (2010). *Taxonomía y botánica de los cultivos de grano*. Honduras: Curly.
- Vallejos, J. (11 de 2012). *slideshare*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/JULIANVALLCIFU/labranza-convencional-y-tipos-de-arado>
- Velásquez, J. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia, Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 152-153.
- Velazques, J. (Enero de 2003). Obtenido de http://www.psi.gob.pe/wp-content/uploads/2016/03/biblioteca_boletines_el_suelo.pdf
- Ventura, R., Aldemaro, C., Ovidio, B., & Parada, J. (2018). CULTIVO DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.). *CENTRO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA Y FORESTAL "Enrique Álvarez Córdova"*, 9-18.
- Vergara, R., Jaramillos, c., & Maria, C. (2011). *INDAP*. Obtenido de <https://www.indap.gob.cl/docs/default-source/default-document-library/cultivo-maiz-de-grano.pdf?sfvrsn=0>
- Viñas, M. (2005). *Universidad de Barcelona*. Obtenido de https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/2396/TESIS_MVINAS_CANALS.pdf
- Vivas, E., & Rivera, R. (2005). *El suelo y la producción vegetal*. Mexico: Universidad Autónoma Chapingo.
- Yanez, P., & Barcenas, M. (junio de 2012). *dspace*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/8823/1/Determinacion%20de%20los%20niveles%20de%20tolerancia%20a%20hidrocarburos%20y%20potencial%20de%20fitorremediacion%20de%20cuatro%20especies%20vegetales%20del%20sector%20Baeza%20El%20Chaco%20Ecuador.pdf>
- Zamora, A., & Ramos, J. (2012). *scielo*. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612012000100002
- Zeledón, H., Hernández, M., Ayala, J., Guzmán, R., Borja, C., Alvarado, M., & Calderón, R. (2018). Guía Técnica del Sorgo. *Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA)*, 6-10.
- Zhao, M., & Duncan, J. (1998). Removal and recovery of nickel from aqueous solution and electroplating rinse effluent using *Azolla filiculoides*. *Process Biochemistry*, 249-255.

7. ANEXOS

ANEXO 1. Toma de coordenadas.



San José, coordenadas UTM
18 M 351267; 9981380, área del
proyecto.



Área del proyecto.

ANEXO 2. Preparación del terreno.



Muestreo de flora, por del
método de cuadrantes.



Limpieza del terreno.



Excavación manual, de las parcelas para las diferentes concentraciones.

ANEXO 3. Método de cuadrantes.



Identificación de la flora, mediante el método de cuadrantes.



Reconocimiento de las especies vegetales.

ANEXO 4. Colocación de crudo.



Derrame del crudo de petróleo, en las parcelas a diferentes concentraciones.



ANEXO 5 Siembra



Siembra de zea mays, Phaseolus vulgaris, Sorghum vulgare y Panicum m̀axicum, en la parcela 0 ppm (blanco).



Siembra de zea mays, Phaseolus vulgaris, Sorghum vulgare y Panicum m̀axicum, en la parcela 1000 ppm.



Siembra de zea mays, Phaseolus vulgaris, Sorghum vulgare y Panicum màxicum, en la parcela 5000 ppm.



Siembra de zea mays, Phaseolus vulgaris, Sorghum vulgare y Panicum màxicum, en la parcela 10000 ppm.

ANEXO 6 Toma de muestras de suelo



Se introduce la pala hasta 20 cm de profundidad.



Con un machete se quita los bordes, dejando una parte de 5 cm ancho.



Se introduce la muestra en una funda ziploc y se la sella.

ANEXO 7. Fertilización y control de plagas.



Aplicación del fertilizante, en el suelo húmedo.



Control de plagas, por el método de fumigación.

ANEXO 8. Método de Bouyoucos.



Se pesaron 40 g de suelo.



Se tritura el suelo por 5 min, ayudándonos con agua destilada.



Se transfiere a la probeta.



Se inserta el densímetro, y se mide en los tiempos 3, 5, 10, 30, 90 min y en un tiempo >8 horas.

ANEXO 9. Conductividad y pH



5 g de suelo en un vaso de precipitación.



Se coloca 10 ml de agua destilada, se agita por durante 30 min.

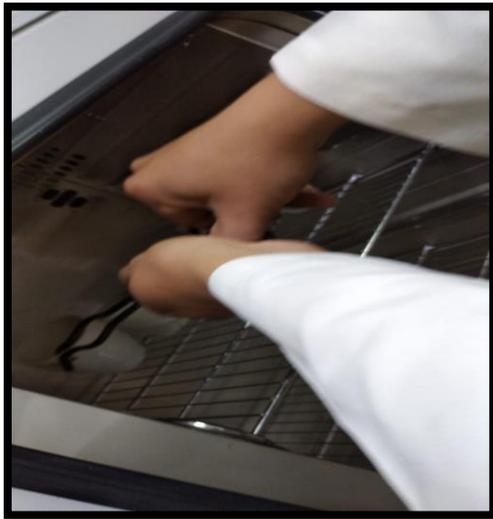
ANEXO 10. Humedad



Se pesan 10 g de suelo.



Se transvasa la muestra de suelo en un crisol a peso constante.



Se coloca dentro de la estufa por 24 horas, a una temperatura de 105 °C.



Se deja en el desecador durante enfriar durante 30 min, y se registra el peso.

ANEXO 11. Carbono Orgánico total.



Se pesan 7 g de suelo.



Se seca la muestra de suelo en la capsula de porcelana a 105 °C, en un tiempo de 24 horas.



Se deja en el desecador durante enfriar durante 30 min, y se registra el peso.



Calcinación de la muestra en una mufla a 700 °C , durante 4 horas.



Muestras después de a ver estado en el desecador por 30 min.

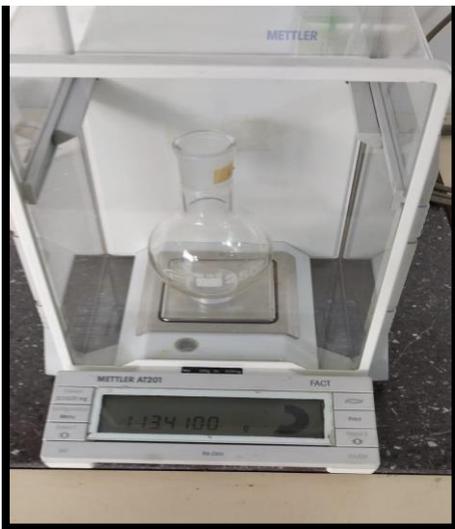
ANEXO 12. Análisis de hidrocarburos, método SOXHLET EXTRACTION



Reactivo utilizado como solvente para la determinación de TPH



Se colocan los balones dentro de la estufa a 120 °C, para llegar a un peso contante.



Se registra el peso inicial de los balones.



Se pesan 10 g de suelo, en los dedales de celulosa.



Conectar los balones al extractor soxhlet, con 300 ml de disolvente durante 8 horas.



Se deja enfriar durante 10 minutos.

ANEXO 13. Extracción del disolvente, método gravimétrico



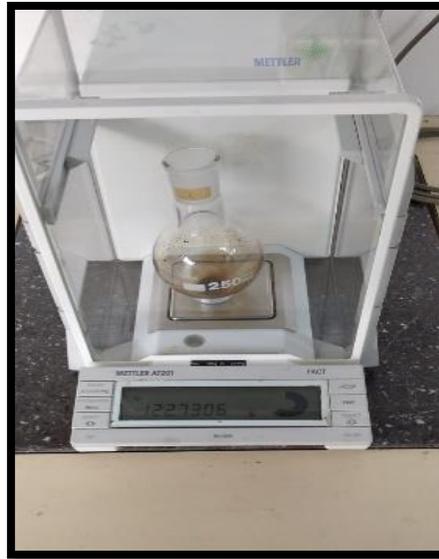
Se pasan los balones al rotaevaporador para la recuperación del disolvente.



Muestra evaporada en su totalidad se deja enfriar por 10 minutos.



Muestra evaporada en su totalidad lista para registrar su peso.



Se registra el peso final de los balones.

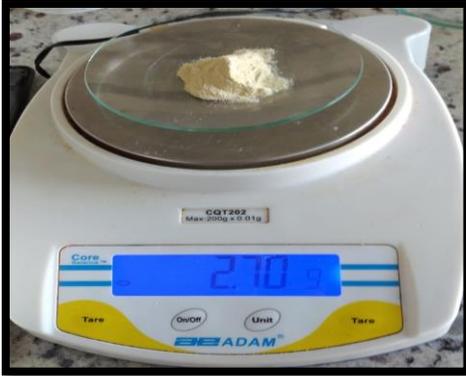
ANEXO 14. Siembra de microorganismos



Agares utilizados: *Tryptona-Soja*, *McConkey*, y *Sabouraud Dextrose*.



Agar utilizados *Pseudomonas*, *Simmons*, y *Potato Dextrose Agar*.



Preparación del medio de cultivo.



Auto clavado de los medios de cultivo.



Transvasar el medio de cultivo en las cajas Petri.



Preparación de muestras.



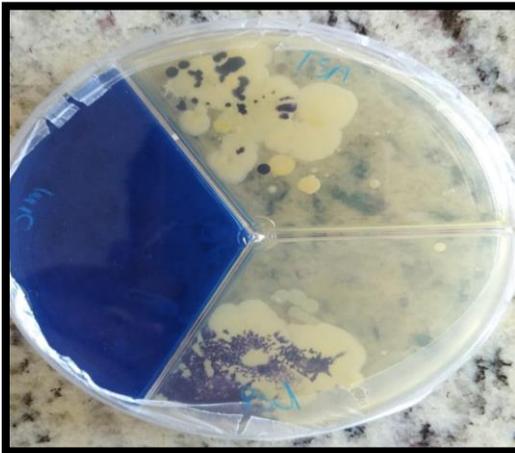
Siembra de microorganismos mediante estrías.



Siembra de microorganismos mediante estrías.

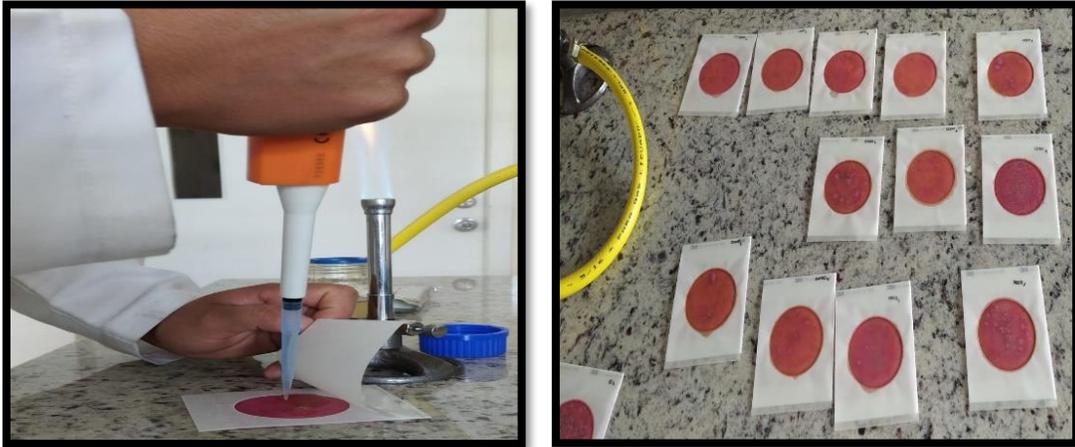


Las muestras se dejan en la incubadora por 24 a 72 horas.

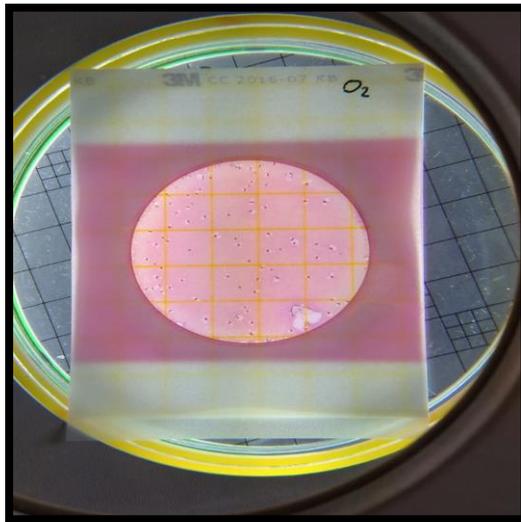


Recuento microbiano.

ANEXO 15. Contero Microbiano.



Siembra de microorganismo en la placa petrifil.

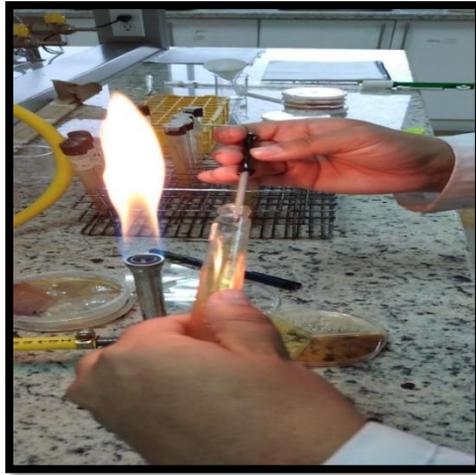


Reconteo microbiano.

ANEXO 16. Pruebas Bioquímicas.



Preparación del medio de cultivo.



Siembra de microorganismos.



Ureasa.

ANEXO 17. Especies vegetales.



Zea mays



Phaseolus vulgaris



Sorghum vulgare



Panicum maximum

ANEXO 18 Valores de pH antes y después.

	Repeticiones	CONCENTRACIONES			
		0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Maiz	Rep 1	6.11	6.14	6.77	6.43
	Rep2	6.14	6.14	6.74	6.4
	Rep 3	6.15	6.18	6.8	6.43
Frejol	Rep 1	6.27	6.09	6.85	6.37
	Rep2	6.31	6.13	6.83	6.4
	Rep 3	6.3	6.14	6.79	6.38
Sorgo	Rep 1	6.23	6.12	6.82	6.41
	Rep2	6.2	6.08	6.83	6.39
	Rep 3	6.25	6.11	6.83	6.37
Pasto	Rep 1	6.25	6.14	6.84	6.38
	Rep2	6.28	6.17	6.77	6.41
	Rep 3	6.28	6.09	6.82	6.42

Previo ensayo experimental

	Repeticiones	CONCENTRACIONES			
		0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Maiz	Rep 1	5.87	4.88	5.55	5.6
	Rep2	5.76	5.04	5.41	5.8
	Rep 3	5.815	4.96	5.48	5.7
Frejol	Rep 1	5.47	5.49	5.42	5.66
	Rep2	5.17	5.44	5.53	5.66
	Rep 3	5.32	5.465	5.475	5.66
Sorgo	Rep 1	5.53	5.9	5.84	5.81
	Rep2	5.61	4.98	5.74	5.61
	Rep 3	5.57	5.44	5.79	5.71
Pasto	Rep 1	6.11	5.56	5.99	6.01
	Rep2	5.62	5.43	5.94	5.97
	Rep 3	5.865	5.495	5.965	5.99

Finalizado el ensayo experimental

ANEXO 19. Valores de conductividad eléctrica antes y después.

	Concentraciones	Unidades	μS/cm	microSiemens/cm	
		CONCENTRACIONES			
		0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Maiz	Rep 1	45	46	48	102
	Rep2	40	44	51	113
	Rep 3	43	40	50	95
Frejol	Rep 1	47	33	29	46
	Rep2	46	38	33	44
	Rep 3	39	36	38	39
Sorgo	Rep 1	43	40	35	65
	Rep2	37	39	40	56
	Rep 3	43	42	39	69
Pasto	Rep 1	40	38	39	53
	Rep2	42	33	44	58
	Rep 3	35	41	36	52

Previo ensayo experimental

	Concentraciones	Unidades	μS/cm	microSiemens/cm	
		CONCENTRACIONES			
		0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Maiz	Rep 1	65	66	68	122
	Rep2	60	64	71	123
	Rep 3	63	60	70	105
Frejol	Rep 1	67	53	49	66
	Rep2	66	58	53	64
	Rep 3	59	56	58	59
Sorgo	Rep 1	63	60	55	85
	Rep2	57	59	60	76
	Rep 3	63	62	59	89
Pasto	Rep 1	60	58	59	73
	Rep2	62	53	64	78
	Rep 3	55	61	56	72

Finalizado el ensayo experimental

ANEXO 20. Valores de humedad antes y después.

	%	CONCENTRACIONES			
	Repeticiones	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Maiz	Rep 1	21	19	19	20
	Rep2	21	19	19	20
	Rep 3	21	20	20	19
Frejol	Rep 1	20.5	18.5	19	20
	Rep2	21	19	19	20
	Rep 3	20	19	19	19
Sorgo	Rep 1	19	20	20	19
	Rep2	20	19	20	20
	Rep 3	21	19	20	19
Pasto	Rep 1	19	18.5	19	19
	Rep2	20	20	20	19
	Rep 3	21	19	20	20

Previo ensayo experimental

	%	CONCENTRACIONES			
	Repeticiones	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Maiz	Rep 1	18	18	18	18
	Rep2	19	18	18	18
	Rep 3	20	19	18	18
Frejol	Rep 1	19	19	19	19
	Rep2	20	18	18	18
	Rep 3	18	20	18	18
Sorgo	Rep 1	18	18	19	18
	Rep2	19	18	18	18
	Rep 3	18	17.5	19	19
Pasto	Rep 1	18	20	18	20
	Rep2	19	19	19	19
	Rep 3	20	18	20	18

Finalizado el ensayo experimental

ANEXO 21. Valores de carbono orgánico antes y después.

Repeticiones	CONCENTRACIONES			
	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Rep 1	2.2	2.64	3.12	3.32
Rep2	2.16	2.76	3.25	3.45
Rep 3	2.12	2.68	3.29	3.36
Rep 1	2.24	2.51	3.22	3.43
Rep2	2.36	2.43	3.11	3.41
Rep 3	2.26	2.55	3.13	3.55
Rep 1	2.14	2.75	3.21	3.38
Rep2	2.28	2.49	3.19	3.36
Rep 3	2.21	2.43	3.01	3.35
Rep 1	2.14	2.26	3.15	3.53
Rep2	2.25	2.56	3.18	3.49
Rep 3	2.22	2.83	3.09	3.51

Previo ensayo experimental

unidad	%	CONCENTRACIONES			
		0 ppm	1000 ppm	5000 ppm	10000 ppm
Maiz	Rep 1	1.86	2.12	2.34	3
	Rep2	1.91	2.06	2.36	2.95
	Rep 3	1.83	2.02	2.38	2.89
Frejol	Rep 1	1.81	2.04	2.41	3.02
	Rep2	1.88	2.06	2.43	3.01
	Rep 3	1.85	2.06	2.35	3.03
Sorgo	Rep 1	1.89	2.04	2.35	2.95
	Rep2	1.93	2.08	2.39	2.93
	Rep 3	1.81	2.01	2.43	3.01
Pasto	Rep 1	1.85	2.04	2.46	3.05
	Rep2	1.91	2.05	2.46	3.08
	Rep 3	1.88	2.02	2.53	3.09

Finalizado el ensayo experimental

ANEXO 22 Valores de nitrógeno antes y después.

unidad	%	CONCENTRACIONES			
		Repeticiones	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm
Maiz	Rep 1	0.26	0.2	0.21	0.22
	Rep2	0.26	0.2	0.19	0.2
	Rep 3	0.25	0.2	0.21	0.21
Frejol	Rep 1	0.24	0.21	0.2	0.23
	Rep2	0.23	0.22	0.2	0.22
	Rep 3	0.23	0.21	0.19	0.22
Sorgo	Rep 1	0.26	0.21	0.18	0.2
	Rep2	0.24	0.2	0.18	0.2
	Rep 3	0.26	0.21	0.2	0.21
Pasto	Rep 1	0.26	0.22	0.2	0.22
	Rep2	0.27	0.21	0.22	0.23
	Rep 3	0.27	0.21	0.21	0.22

Previo ensayo experimental

unidad	%	CONCENTRACIONES			
		Repeticiones	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm
Maiz	Rep 1	0.16	0.17	0.34	0.35
	Rep2	0.22	0.17	0.35	0.34
	Rep 3	0.19	0.18	0.33	0.35
Frejol	Rep 1	0.18	0.2	0.35	0.36
	Rep2	0.21	0.19	0.37	0.37
	Rep 3	0.2	0.15	0.36	0.37
Sorgo	Rep 1	0.21	0.16	0.34	0.34
	Rep2	0.19	0.18	0.36	0.36
	Rep 3	0.17	0.18	0.35	0.35
Pasto	Rep 1	0.21	0.19	0.37	0.38
	Rep2	0.2	0.18	0.38	0.38
	Rep 3	0.22	0.19	0.36	0.38

Finalizado el ensayo experimental

ANEXO 23 Valores de fósforo antes y después.

unidad	ppm	CONCENTRACIONES			
		Repeticiones	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm
Maiz	Rep 1	0.19	0.13	0.01	0.01
	Rep2	0.2	0.13	0.01	0.01
	Rep 3	0.19	0.13	0.01	0.01
Frejol	Rep 1	0.2	0.14	0.01	0.01
	Rep2	0.19	0.13	0.01	0.01
	Rep 3	0.19	0.14	0.01	0.01
Sorgo	Rep 1	0.18	0.13	0.01	0.01
	Rep2	0.18	0.13	0.01	0.01
	Rep 3	0.19	0.12	0.01	0.01
Pasto	Rep 1	0.2	0.15	0.01	0.01
	Rep2	0.2	0.13	0.01	0.01
	Rep 3	0.2	0.13	0.01	0.01

Previo ensayo experimental

unidad	ppm	CONCENTRACIONES			
		Repeticiones	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm
Maiz	Rep 1	2.17	1.63	1.24	1.26
	Rep2	2.18	1.65	1.26	1.24
	Rep 3	2.18	1.66	1.25	1.23
Frejol	Rep 1	2.16	1.66	1.25	1.25
	Rep2	2.19	1.68	1.28	1.26
	Rep 3	2.17	1.65	1.26	1.27
Sorgo	Rep 1	2.16	1.67	1.25	1.26
	Rep2	2.18	1.66	1.24	1.24
	Rep 3	2.16	1.65	1.27	1.24
Pasto	Rep 1	2.19	1.67	1.29	1.27
	Rep2	2.18	1.65	1.28	1.27
	Rep 3	2.19	1.66	1.26	1.27

Finalizado el ensayo experimental

ANEXO 24 Valores de potasio antes y después.

unidad	meq/100 g	CONCENTRACIONES			
		Repeticiones	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm
Maiz	Rep 1	0.23	0.25	0.25	0.26
	Rep2	0.23	0.24	0.25	0.25
	Rep 3	0.23	0.24	0.25	0.25
Frejol	Rep 1	0.24	0.25	0.25	0.26
	Rep2	0.23	0.25	0.26	0.26
	Rep 3	0.23	0.25	0.25	0.26
Sorgo	Rep 1	0.22	0.23	0.25	0.25
	Rep2	0.22	0.25	0.23	0.26
	Rep 3	0.23	0.24	0.25	0.26
Pasto	Rep 1	0.23	0.25	0.25	0.26
	Rep2	0.23	0.25	0.25	0.26
	Rep 3	0.24	0.25	0.25	0.26

Previo ensayo experimental

unidad	meq/100 g	CONCENTRACIONES			
		Repeticiones	0 ppm	1000 ppm	5000 ppm
Maiz	Rep 1	0.17	0.18	0.19	0.21
	Rep2	0.14	0.19	0.2	0.19
	Rep 3	0.15	0.16	0.21	0.23
Frejol	Rep 1	0.16	0.19	0.2	0.21
	Rep2	0.14	0.18	0.19	0.2
	Rep 3	0.15	0.16	0.2	0.18
Sorgo	Rep 1	0.17	0.16	0.18	0.23
	Rep2	0.15	0.18	0.2	0.19
	Rep 3	0.17	0.17	0.17	0.21
Pasto	Rep 1	0.15	0.18	0.2	0.23
	Rep2	0.15	0.18	0.19	0.19
	Rep 3	0.16	0.17	0.2	0.23

Finalizado el ensayo experimental

ANEXO 25. valores UFC/g antes y después.

Especie	Concentración	UFC_Inicio	UFC_Final	Especie	Concentración	UFC_Inicio	UFC_Final
Potato Dextrose Agar				Potato Dextrose Agar			
Maiz	0 ppm	2.50E+01	5.00E+01	Maiz	1000 ppm	5.60E+01	1.02E+02
Maiz	0 ppm	4.50E+01	5.30E+01	Maiz	1000 ppm	7.80E+01	1.22E+02
Maiz	0 ppm	4.80E+01	5.90E+01	Maiz	1000 ppm	5.40E+01	1.12E+02
Frejol	0 ppm	5.50E+01	6.80E+01	Frejol	1000 ppm	8.00E+01	1.20E+02
Frejol	0 ppm	5.90E+01	7.10E+01	Frejol	1000 ppm	7.50E+01	1.33E+02
Frejol	0 ppm	6.00E+01	6.50E+01	Frejol	1000 ppm	9.00E+01	1.29E+02
Sorgo	0 ppm	3.30E+01	6.10E+01	Sorgo	1000 ppm	6.50E+01	1.10E+02
Sorgo	0 ppm	5.00E+01	6.30E+01	Sorgo	1000 ppm	7.50E+01	1.22E+02
Sorgo	0 ppm	5.10E+01	6.70E+01	Sorgo	1000 ppm	8.00E+01	1.19E+02
Pasto	0 ppm	6.00E+01	1.00E+02	Pasto	1000 ppm	8.50E+01	1.33E+02
Pasto	0 ppm	6.30E+01	9.80E+01	Pasto	1000 ppm	7.50E+01	1.42E+02
Pasto	0 ppm	6.70E+01	9.70E+01	Pasto	1000 ppm	6.90E+01	1.47E+02
Agar McConkey				Agar McConkey			
Maiz	0 ppm	1.10E+01	3.50E+01	Maiz	1000 ppm	5.60E+01	1.32E+02
Maiz	0 ppm	2.10E+01	3.40E+01	Maiz	1000 ppm	5.00E+01	1.28E+02
Maiz	0 ppm	3.20E+01	4.10E+01	Maiz	1000 ppm	6.10E+01	1.27E+02
Frejol	0 ppm	5.10E+01	6.40E+01	Frejol	1000 ppm	7.00E+01	1.45E+02
Frejol	0 ppm	5.30E+01	7.10E+01	Frejol	1000 ppm	7.40E+01	1.39E+02
Frejol	0 ppm	5.70E+01	6.90E+01	Frejol	1000 ppm	7.80E+01	1.37E+02
Sorgo	0 ppm	3.20E+01	5.00E+01	Sorgo	1000 ppm	6.60E+01	1.34E+02
Sorgo	0 ppm	3.90E+01	5.10E+01	Sorgo	1000 ppm	6.30E+01	1.30E+02
Sorgo	0 ppm	4.00E+01	5.50E+01	Sorgo	1000 ppm	6.40E+01	1.36E+02
Pasto	0 ppm	5.50E+01	7.00E+01	Pasto	1000 ppm	8.50E+01	1.50E+02
Pasto	0 ppm	5.60E+01	7.50E+01	Pasto	1000 ppm	8.40E+01	1.49E+02
Pasto	0 ppm	6.10E+01	7.90E+01	Pasto	1000 ppm	8.30E+01	1.43E+02
Sabouraud Dextrose Agar				Sabouraud Dextrose Agar			
Maiz	0 ppm	6.70E+01	7.60E+01	Maiz	1000 ppm	5.00E+01	1.35E+02
Maiz	0 ppm	4.50E+01	7.90E+01	Maiz	1000 ppm	5.60E+01	1.37E+02
Maiz	0 ppm	5.20E+01	8.10E+01	Maiz	1000 ppm	7.60E+01	1.41E+02
Frejol	0 ppm	6.10E+01	8.40E+01	Frejol	1000 ppm	7.90E+01	1.52E+02
Frejol	0 ppm	6.40E+01	8.60E+01	Frejol	1000 ppm	8.00E+01	1.57E+02
Frejol	0 ppm	6.60E+01	8.90E+01	Frejol	1000 ppm	8.30E+01	1.50E+02
Sorgo	0 ppm	5.20E+01	8.10E+01	Sorgo	1000 ppm	6.10E+01	1.40E+02
Sorgo	0 ppm	6.40E+01	8.30E+01	Sorgo	1000 ppm	6.80E+01	1.46E+02
Sorgo	0 ppm	7.40E+01	8.70E+01	Sorgo	1000 ppm	7.10E+01	1.39E+02
Pasto	0 ppm	6.10E+01	8.90E+01	Pasto	1000 ppm	7.90E+01	1.61E+02
Pasto	0 ppm	5.50E+01	9.10E+01	Pasto	1000 ppm	8.10E+01	1.67E+02
Pasto	0 ppm	5.90E+01	9.40E+01	Pasto	1000 ppm	8.90E+01	1.74E+02

Especie	Concentración	UFC_Inicio	UFC_Final	Especie	Concentración	UFC_Inicio	UFC_Final
Potato Dextrose Agar				Potato Dextrose Agar			
Maiz	5000 ppm	7.90E+01	1.51E+02	Maiz	10000 ppm	8.00E+01	2.50E+02
Maiz	5000 ppm	7.80E+01	1.56E+02	Maiz	10000 ppm	8.10E+01	2.64E+02
Maiz	5000 ppm	8.20E+01	1.61E+02	Maiz	10000 ppm	7.50E+01	2.64E+02
Frejol	5000 ppm	8.60E+01	1.64E+02	Frejol	10000 ppm	8.90E+01	2.71E+02
Frejol	5000 ppm	8.10E+01	1.71E+02	Frejol	10000 ppm	8.10E+01	2.78E+02
Frejol	5000 ppm	8.50E+01	1.78E+02	Frejol	10000 ppm	9.20E+01	2.70E+02
Sorgo	5000 ppm	8.20E+01	1.63E+02	Sorgo	10000 ppm	8.50E+01	2.63E+02
Sorgo	5000 ppm	8.40E+01	1.67E+02	Sorgo	10000 ppm	8.70E+01	2.67E+02
Sorgo	5000 ppm	8.30E+01	1.70E+02	Sorgo	10000 ppm	9.00E+01	2.67E+02
Pasto	5000 ppm	8.90E+01	1.78E+02	Pasto	10000 ppm	9.80E+01	2.70E+02
Pasto	5000 ppm	9.10E+01	1.80E+02	Pasto	10000 ppm	9.90E+01	2.74E+02
Pasto	5000 ppm	9.40E+01	1.86E+02	Pasto	10000 ppm	1.01E+02	2.78E+02
Agar McConkey				Agar McConkey			
Maiz	5000 ppm	7.60E+01	1.56E+02	Maiz	10000 ppm	8.60E+01	2.51E+02
Maiz	5000 ppm	7.80E+01	1.54E+02	Maiz	10000 ppm	8.40E+01	2.53E+02
Maiz	5000 ppm	8.10E+01	1.59E+02	Maiz	10000 ppm	8.30E+01	2.60E+02
Frejol	5000 ppm	8.50E+01	1.67E+02	Frejol	10000 ppm	9.10E+01	2.81E+02
Frejol	5000 ppm	8.90E+01	1.78E+02	Frejol	10000 ppm	9.40E+01	2.74E+02
Frejol	5000 ppm	8.10E+01	1.74E+02	Frejol	10000 ppm	9.00E+01	2.68E+02
Sorgo	5000 ppm	8.00E+01	1.64E+02	Sorgo	10000 ppm	9.00E+01	2.71E+02
Sorgo	5000 ppm	7.90E+01	1.69E+02	Sorgo	10000 ppm	9.10E+01	2.67E+02
Sorgo	5000 ppm	7.80E+01	1.72E+02	Sorgo	10000 ppm	8.90E+01	2.65E+02
Pasto	5000 ppm	9.10E+01	1.82E+02	Pasto	10000 ppm	9.90E+01	2.84E+02
Pasto	5000 ppm	9.40E+01	1.87E+02	Pasto	10000 ppm	9.60E+01	2.64E+02
Pasto	5000 ppm	9.60E+01	1.90E+02	Pasto	10000 ppm	9.70E+01	2.78E+02
Sabouraud Dextrose Agar				Sabouraud Dextrose Agar			
Maiz	5000 ppm	7.80E+01	1.78E+02	Maiz	10000 ppm	8.70E+01	2.61E+02
Maiz	5000 ppm	7.60E+01	1.59E+02	Maiz	10000 ppm	8.90E+01	2.56E+02
Maiz	5000 ppm	7.10E+01	1.67E+02	Maiz	10000 ppm	9.20E+01	2.46E+02
Frejol	5000 ppm	8.40E+01	1.78E+02	Frejol	10000 ppm	9.40E+01	2.69E+02
Frejol	5000 ppm	8.60E+01	1.82E+02	Frejol	10000 ppm	9.60E+01	2.75E+02
Frejol	5000 ppm	8.10E+01	1.87E+02	Frejol	10000 ppm	9.20E+01	2.41E+02
Sorgo	5000 ppm	8.30E+01	1.81E+02	Sorgo	10000 ppm	9.00E+01	2.71E+02
Sorgo	5000 ppm	8.60E+01	1.89E+02	Sorgo	10000 ppm	9.10E+01	1.64E+02
Sorgo	5000 ppm	8.10E+01	1.87E+02	Sorgo	10000 ppm	9.20E+01	2.63E+02
Pasto	5000 ppm	9.60E+01	2.02E+02	Pasto	10000 ppm	9.80E+01	3.00E+02
Pasto	5000 ppm	9.40E+01	2.14E+02	Pasto	10000 ppm	9.90E+01	3.05E+02
Pasto	5000 ppm	9.10E+01	2.19E+02	Pasto	10000 ppm	1.00E+02	3.07E+02

ANEXO 26. promedio de las variables evaluadas durante los 120 días de duración del estudio de cada especie y concentración.

Dias	Concentra cion (ppm)	Especi e	TPHs (mg/kg)	Altura (cm)	Diamet ro (cm)	Biomasa Aerea (g/planta)	Biomasa Radicular (mg/planta)	Flores	Frutos	Hojas_B	Hojas_M
15	0	Maiz	0	9.06	0.269	1.87	452.30	0	0	2	1
15	0	Frejol	0	6.94	0.215	1.32	935.10	0	0	6	6
15	0	Sorgo	0	4.45	0.138	0.4	462.03	0	0	6	3
15	0	Pasto	0	4.04	0.108	11.82	951.83	0	0	3	2
15	1000	Maiz	981	6.91	0.271	1.5	448.56	0	0	2	2
15	1000	Frejol	921	5.86	0.211	1.14	905.97	0	0	5	4
15	1000	Sorgo	969	3.11	0.137	0.3	452.17	0	0	5	3
15	1000	Pasto	931	5.88	0.107	7.23	905.83	0	0	2	2
15	5000	Maiz	4890	7.11	0.263	1.3	432.30	0	0	3	2
15	5000	Frejol	4841	7.07	0.214	1.1	900.10	0	0	5	3
15	5000	Sorgo	4905	3.56	0.139	0.24	442.03	0	0	4	3
15	5000	Pasto	4810	6.60	0.109	6.77	890.26	0	0	2	2
15	10000	Maiz	9932	6.10	0.271	0.36	422.56	0	0	3	3
15	10000	Frejol	9863	5.66	0.209	0.31	899.97	0	0	6	3
15	10000	Sorgo	9983	3.08	0.137	0.2	437.17	0	0	5	2
15	10000	Pasto	9879	7.54	0.107	5.77	888.83	0	0	3	2
30	0	Maiz	0	22.58	1.19	4.69	472.31	0	0	3	2
30	0	Frejol	0	16.28	0.36	1.4	946.51	0	0	5	5
30	0	Sorgo	0	6.90	0.26	1.2	465.17	0	0	7	5
30	0	Pasto	0	10.23	0.18	17.57	957.13	0	0	3	2
30	1000	Maiz	981	18.58	1.19	3.89	466.07	0	0	2	3
30	1000	Frejol	921	16.53	0.36	1.2	949.37	0	0	4	4
30	1000	Sorgo	969	9.40	0.25	0.42	469.20	0	0	8	7
30	1000	Pasto	931	14.94	0.16	15.49	912.93	0	0	4	3
30	5000	Maiz	4890	15.95	1.19	3.71	463.97	0	0	2	3
30	5000	Frejol	4841	17.47	0.36	1.14	916.51	0	0	4	5
30	5000	Sorgo	4905	6.94	0.26	0.4	465.17	0	0	5	6
30	5000	Pasto	4810	17.14	0.17	14.89	907.13	0	0	3	2
30	10000	Maiz	9932	13.16	1.19	2.37	456.07	0	0	3	2
30	10000	Frejol	9863	16.23	0.35	1.12	906.37	0	0	5	3
30	10000	Sorgo	9983	8.82	0.25	0.36	469.20	0	0	8	6
30	10000	Pasto	9879	22.30	0.16	13.68	903.93	0	0	4	3
45	0	Maiz	0	36.46	1.40	13.42	476.21	0	0	3	3
45	0	Frejol	0	26.88	0.52	8	953.43	0	0	7	5
45	0	Sorgo	0	15.15	0.31	3.65	490.83	0	0	3	4
45	0	Pasto	0	21.76	0.25	20.28	961.40	0	0	9	8
45	1000	Maiz	964	29.98	1.39	10.02	470.47	0	0	5	3
45	1000	Frejol	892	27.33	0.53	6.97	950.33	0	0	7	4
45	1000	Sorgo	914	13.91	0.31	2	481.03	0	0	4	4
45	1000	Pasto	871	25.67	0.25	23.33	930.63	0	0	9	10
45	5000	Maiz	4699	26.11	1.40	8.09	466.21	0	0	3	3
45	5000	Frejol	4720	28.59	0.53	5.36	920.43	0	0	7	5
45	5000	Sorgo	4899	14.65	0.32	1.5	473.83	0	0	3	4
45	5000	Pasto	4601	30.04	0.25	63.65	919.40	0	0	7	8
45	10000	Maiz	9892	24.40	1.39	7.02	460.47	0	0	5	3
45	10000	Frejol	9780	28.69	0.51	3.97	918.33	0	0	7	5
45	10000	Sorgo	9961	15.08	0.31	1.8	470.03	0	0	3	3
45	10000	Pasto	8899	33.51	0.25	23.33	909.63	0	0	9	8

Dias	Concentracion (ppm)	Especie	TPHs (mg/kg)	Altura (cm)	Diametro (cm)	Biomasa Aerea (g/planta)	Biomasa Radicular (mg/planta)	Flores	Frutos	Hojas_B	Hojas_M
60	0	Maiz	0	57.35	1.68	30.09	483.90	0	1	5	3
60	0	Frejol	0	46.50	0.73	11.98	962.50	0	1	18	5
60	0	Sorgo	0	26.93	0.65	4.65	496.23	0	0	4	4
60	0	Pasto	0	35.93	0.75	95.62	970.87	0	0	10	9
60	1000	Maiz	947	50.00	1.70	21.59	475.13	0	1	5	2
60	1000	Frejol	782	43.88	0.71	10.06	960.47	0	1	8	7
60	1000	Sorgo	891	29.63	0.65	4.12	493.67	0	0	3	3
60	1000	Pasto	783	42.24	0.77	28.72	956.00	0	1	7	10
60	5000	Maiz	4540	39.36	1.69	14.84	469.90	0	1	5	4
60	5000	Frejol	4612	44.23	0.74	8.86	956.50	1	1	18	5
60	5000	Sorgo	4689	25.46	0.63	3.98	489.33	0	0	4	4
60	5000	Pasto	3948	50.44	0.75	26.85	950.87	0	0	8	11
60	10000	Maiz	9561	57.74	1.71	10.55	459.13	0	1	5	2
60	10000	Frejol	8984	44.72	0.70	9.86	936.47	0	1	8	7
60	10000	Sorgo	9940	22.33	0.66	3.2	479.67	0	0	3	4
60	10000	Pasto	7590	57.38	0.79	22.59	935.23	0	0	8	11
75	0	Maiz	0	77.92	2.08	42.14	490.53	1	2	2	2
75	0	Frejol	0	53.05	1.09	15.07	980.10	2	4	8	3
75	0	Sorgo	0	39.11	1.02	7.47	501.20	0	0	5	4
75	0	Pasto	0	55.20	1.19	110.86	974.03	0	1	19	17
75	1000	Maiz	943	64.13	2.07	31.69	480.37	1	2	1	4
75	1000	Frejol	764	54.78	1.10	12.14	972.07	4	5	6	4
75	1000	Sorgo	869	37.92	1.05	6.74	499.70	0	0	2	5
75	1000	Pasto	725	58.38	1.13	107	964.70	0	1	14	15
75	5000	Maiz	4391	55.18	2.05	24.07	470.13	1	2	2	4
75	5000	Frejol	4266	55.68	1.10	11.14	964.70	7	5	6	4
75	5000	Sorgo	4576	32.95	0.99	5.45	494.57	0	0	2	3
75	5000	Pasto	3724	66.95	1.15	101.23	960.73	0	1	12	13
75	10000	Maiz	9406	53.21	2.09	18.07	464.37	1	1	2	2
75	10000	Frejol	8633	53.05	1.09	10.14	958.07	6	5	4	2
75	10000	Sorgo	9914	36.03	1.05	4.89	499.43	1	0	2	3
75	10000	Pasto	6974	83.33	1.12	98.78	954.70	6	1	9	12
90	0	Maiz	0	100.22	2.30	66.39	504.97	1	2	4	4
90	0	Frejol	0	56.89	1.49	26.09	988.87	2	4	16	6
90	0	Sorgo	0	45.65	1.05	15.05	510.97	0	0	5	4
90	0	Pasto	0	82.33	1.63	182.67	978.20	0	45	8	12
90	1000	Maiz	938	77.55	2.34	51.23	500.83	1	2	4	4
90	1000	Frejol	731	60.36	1.54	23.21	981.17	4	5	12	12
90	1000	Sorgo	851	45.57	1.08	12.53	501.97	0	0	5	4
90	1000	Pasto	654	76.95	1.64	172.12	970.77	0	30	12	13
90	5000	Maiz	4253	72.68	2.38	41.58	478.87	1	2	5	3
90	5000	Frejol	3939	61.96	1.47	20.52	968.87	7	5	15	6
90	5000	Sorgo	4388	44.00	1.06	10.08	498.93	0	0	5	4
90	5000	Pasto	3308	91.82	1.62	140.32	968.20	0	20	8	10
90	10000	Maiz	9329	72.06	2.33	30.09	468.83	1	1	4	4
90	10000	Frejol	8997	58.91	1.58	15.99	960.17	6	5	12	8
90	10000	Sorgo	9898	54.07	1.06	6.37	500.97	1	0	5	4
90	10000	Pasto	6362	157.02	1.65	120.29	958.13	6	15	7	12

Dias	Concentracion (ppm)	Especie	TPHs (mg/kg)	Altura (cm)	Diametro (cm)	Biomasa Aerea (g/planta)	Biomasa Radicular (mg/plant)	Flores	Frutos	Hojas_B	Hojas_M
105	0	Maiz	0	121.99	2.87	78.26	510.97	0	0	1	4
105	0	Frejol	0	59.44	1.97	30.67	993.00	3	4	9	6
105	0	Sorgo	0	52.56	1.68	17.64	518.73	1	1	3	2
105	0	Pasto	0	98.04	1.94	190.29	982.73	1	38	8	10
105	1000	Maiz	929	102.26	2.97	61.68	505.83	0	0	1	4
105	1000	Frejol	712	64.30	2.04	25.76	983.20	2	6	13	11
105	1000	Sorgo	848	55.15	1.59	13.59	504.97	1	1	2	4
105	1000	Pasto	598	106.48	1.97	178.12	978.93	1	30	6	13
105	5000	Maiz	4185	92.42	2.87	53.68	490.13	0	0	1	4
105	5000	Frejol	3767	64.11	1.97	22.39	973.00	1	4	9	6
105	5000	Sorgo	4163	52.46	1.68	11.51	502.87	0	0	2	2
105	5000	Pasto	2916	116.14	1.94	160.03	982.73	1	25	9	10
105	10000	Maiz	9198	87.66	2.89	43.56	477.53	0	0	1	4
105	10000	Frejol	7751	63.20	2.02	17.58	965.40	1	3	13	11
105	10000	Sorgo	9897	62.38	1.66	8.97	501.47	0	0	2	4
105	10000	Pasto	5767	160.90	2.02	141.28	978.20	1	17	8	11
120	0	Maiz	0	122.57	0.00	73.45	508	0	1	0	6
120	0	Frejol	0	60.11	2.01	32.14	998.80	4	4	10	11
120	0	Sorgo	0	56.49	1.70	19.42	520.97	1	1	10	8
120	0	Pasto	0	120.04	2.03	200.15	987.73	1	45	22	30
120	1000	Maiz	923	102.33	0.00	54.74	501	2	1	0	5
120	1000	Frejol	698	65.39	1.95	27.12	990.77	1	3	10	9
120	1000	Sorgo	836	64.39	1.93	13.98	509.33	1	1	3	4
120	1000	Pasto	562	123.07	2.11	189.34	980.67	1	30	19	21
120	5000	Maiz	4052	93.55	0.00	46.95	483	1	1	0	6
120	5000	Frejol	3245	65.17	2.00	23.26	985.80	2	16	7	8
120	5000	Sorgo	3984	60.89	1.73	12.56	507.73	1	6	12	8
120	5000	Pasto	2696	136.51	1.99	174.36	982.99	1	25	15	30
120	10000	Maiz	8985	88.62	0.00	37.87	465	1	1	0	5
120	10000	Frejol	7235	64.38	1.98	19.32	970.77	2	5	10	9
120	10000	Sorgo	8947	77.40	1.93	10.01	502.00	1	1	3	4
120	10000	Pasto	4953	160.90	2.11	153.6	983.33	1	20	15	25

ANEXO 27. promedio de la cuantificación de TPH.

Concentraciones (ppm)	Especie	15 días	30 días	45 días	60 días	75 días	90 días	105 días	120 días
0	<i>Zea mays</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
0	<i>Phaseolus vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
0	<i>Sorghum vulgare</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
0	<i>Panicum máximum jacq</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	<i>Zea mays</i>	998	981	964	947	943	938	929	923
1000	<i>Phaseolus vulgaris</i>	950	921	892	782	764	731	712	698
1000	<i>Sorghum vulgare</i>	980	969	914	891	869	851	848	836
1000	<i>Panicum máximum jacq</i>	964	931	871	783	725	654	598	562
5000	<i>Zea mays</i>	4990	4890	4699	4540	4391	4253	4185	4052
5000	<i>Phaseolus vulgaris</i>	4964	4841	4720	4612	4266	3939	3767	3245
5000	<i>Sorghum vulgare</i>	4955	4905	4899	4689	4576	4388	4163	3984
5000	<i>Panicum máximum jacq</i>	4890	4810	4601	3948	3724	3308	2916	2696
10000	<i>Zea mays</i>	9981	9932	9892	9561	9406	9329	9198	8985
10000	<i>Phaseolus vulgaris</i>	9898	9863	9780	8984	8633	81997	7751	7235
10000	<i>Sorghum vulgare</i>	9999	9983	9961	9940	9914	9898	9897	8947
10000	<i>Panicum máximum jacq</i>	9867	9879	8899	7590	6974	6362	5767	4953