

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
IZTAPALAPA

COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA FITORREMIADORA DE
Cyperus laxus Lam. y Paspalum arundinaceum Poir. EN SUELOS
CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

PRESENTA:

BIOL. RAÚL CHACÓN ALVARADO

COMITÉ TUTORAL

DRA. MARGARITA E. GALLEGOS MARTÍNEZ.

DR. DAVID MANUEL DÍAZ PONTONES.

DR. MARIANO GUTIÉRREZ ROJAS.

México DF. Noviembre 2005

Miembros del comité Tutorial.

Dra. Margarita E. Gallegos Martínez Co-Tutor

Profesora Titular "C" UAM-I.

Depto de Hidrobiología Lab. De Ecosistemas Costeros

gmm@xanum.uam.mx

Dr. David Manuel Díaz Pontones Co-Tutor

Profesor Titular "C" UAM-I

Depto de Ciencias de la Salud. Lab. De Histoquímica.

dmdp@xanum.uam.mx

Dr. Mariano Gutiérrez Rojas Co-Tutor

Profesor Titular "C" UAM-I

Depto. De Biotecnología. Lab de Residuos Sólidos

mgr@xanum.uam.mx

La Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa se encuentra dentro del Padrón de Excelencia del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, con el número de registro 309-0, y en el Padrón de Programas del PIFOP-CONACYT clave C/PFPN-2002-35-32.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología la beca otorgada para la realización de los estudios de Maestría (número 169516).

Los miembros del jurado designado por la división de Ciencias Biológicas y de La Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada "COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA FITORREMEDIADORA DE *Cyperus laxus* Lam. y *Paspalum arundinaceum* Poir. EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS con fecha de 11 de noviembre del 2005 como requisito para obtener el grado de:

MAESTRO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL.

Dr. David Manuel Díaz Pontones

Presidente

Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Secretario

Dra. Roció Cruz Ortega

Vocal

Dra. Margarita E. Gallegos Martínez

Vocal

“Y a la puerta de la ciencia, como a la del infierno, debiera estamparse esta consigna: Dejes aquí cuanto sea recelo, mátese aquí cuanto sea vileza”

K. Marx.

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL	6
Índice de figuras	8
Índice de tablas.....	11
RESUMEN	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN	14
2. ANTECEDENTES	16
2.1- Fitorremediación.....	16
2.2.- Plantas Fitorremediadoras	17
2.2.1 Cyperus laxus Lam.....	17
2.2.2 Paspalum arundinaceum Poiret.....	18
2.3.- Efecto de la rizósfera.	19
2.4.- Hidrocarburos	20
2.5.- Hidrocarburos en el suelo	20
3. JUSTIFICACIÓN.....	22
4. OBJETIVO GENERAL.	23
5. OBJETIVOS PARTICULARES.	23
6. HIPÓTESIS.	24
7. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
8. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
8.1. Experimento I: Evaluación del efecto de los hidrocarburos en la biometría e histoquímica de la raíz de C. laxus y P. arundinaceum.	27
8.1.1. Material Biológico	27
8.1.2. Caracterización del suelo.	27
8.1.2.1. Textura del suelo.....	27
8.1.2.2. Determinación del pH.....	28
8.1.2.3. Determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo	28
8.1.3.-Procedimiento	28
8.1.4.- Procedimientos Histoquímicos.	31
8.1.4.1. Fijación y corte.....	31
8.1.4.2. Tinción.....	32
8.2. Experimento II: Comparación de la eficiencia fitorremediadora y determinación del volumen rizosférico	33
8.2.1. Caracterización del suelo	33
8.2.2. Material Biológico	33
8.2.3. Unidades experimentales.....	33
8.2.4. Procedimiento	34
9. RESULTADOS.....	38
9.1 Experimento I: Efecto de los hidrocarburos presentes en suelo sobre la biometría e histoquímica de la raíz de C. laxus y P. arundinaceum.....	38
9.1.1 Caracterización de suelos.....	38
9.1.2 Biometría.....	39
9.1.2.1. Cyperus laxus Lam.....	40
9.1.2.2. Paspalum arundinaceum Poir.	44

9.1.3. Aspectos Histoquímicos	48
9.1.3.1. <i>Cyperus laxus</i> Lam.....	48
9.1.3.2. <i>Paspalum arundinaceum</i> Poiret.....	55
9.2 Concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo.....	61
9.2.1 Concentración de HTP en cada tratamiento, sin considerar el efecto de la profundidad.	61
9.2.2. Concentración de hidrocarburos en cada tratamiento, considerando la profundidad	64
9.3. Determinación del tamaño de partícula considerando la profundidad.....	69
9.3.1 Gravas	70
9.3.2 Arenas	74
9.3.3 Limos gruesos.....	78
9.3.4 Arcillas y limos finos.....	81
9.4. Interacción del tamaño de partícula y la variación en la concentración de hidrocarburos.	85
9.5 Determinación de la materia orgánica considerando la profundidad	94
9.6. Interacción de la materia orgánica con la variación en la concentración de hidrocarburos.	97
9.7 pH del suelo.....	104
9.8 Determinación de número de rametos y longitud máxima de la hoja.....	107
9.8.1 Número de rametos.....	108
9.8.2. Longitud máxima de las hojas.....	110
10. DISCUSION.....	112
10.1 Caracterización del suelo utilizado para evaluar el efecto de los hidrocarburos en la Biometría de ambas especies de plantas.	112
10.2 Efecto de los hidrocarburos sobre la Biometría de <i>C. laxus</i> y <i>P. arundinaceum</i>	113
10.3 Efecto de los hidrocarburos en la histoquímica de la raíz de ambas especies de plantas.....	115
10.4 Concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo	121
10.5 Tamaño de partícula	123
10.6 Interacción del tamaño de partícula y la concentración de hidrocarburos.	124
10.7 Materia orgánica	125
10.8 Interacción de la materia orgánica con la variación en la concentración de hidrocarburos.	126
10.9 pH	126
10.10 Determinación de número de rametos y longitud máxima de la hoja.	127
11. CONCLUSIONES.....	130
12. RECOMENDACIONES.....	132
13 LITERATURA CITADA.	133
ANEXO DE TABLAS.....	142

Índice de figuras

Figura 7. 1 Esquema de la distribución de los objetivos particulares en los experimentos realizados.....	25
Figura 7. 2. Desarrollo general de experimentos.....	26
Figura 8. 1. Unidad experimental de crecimiento.....	29
Figura 8. 2. Esquema de las regiones de corte seleccionadas en el análisis histoquímico.....	31
Figura 8. 3. Unidad experimental para evaluar la eficiencia fitorremediadora y el volumen de influencia rizosferica.....	33
Figura 8. 4. Tratamientos de suelo A) <i>C. laxus</i> ; B) <i>P. arundinaceum</i> ; C) Ambas especies y D) suelo sin plantas.....	34
Figura 9. 1. Biometría de variables de respuesta de la especie <i>C. laxus</i> : A) porcentaje de sobrevivencia de plantas, B) longitud máxima de hoja; C) longitud máxima de raíz; D) peso fresco del sistema de raíces; E) ancho de la raíz a la altura del ápice y F) longitud del ápice a la primera raíz lateral, con un crecimiento mayor a 0.5 cm. La barra indica una desviación estándar.....	42
Figura 9. 2. Biometría de las variables de respuesta de la especie <i>P. arundinaceum</i> : A) porcentaje de sobrevivencia de plantas, B) longitud máxima de hoja; C) longitud máxima de raíz; D) peso fresco del sistema radicular; E) ancho de la raíz a la altura del ápice y F) longitud del ápice a la primera raíz lateral, con un crecimiento mayor a 0.5 cm. La barra indica una desviación estándar.....	47
Figura 9. 3. Histoquímica de raíz de <i>Cyperus laxus</i> en ausencia de hidrocarburos intemperizados.....	52
Figura 9. 4. Histoquímica de raíz de <i>Cyperus laxus</i> en presencia de hidrocarburos intemperizados.....	54
Figura 9. 5. Histoquímica de la raíz de <i>P. arundinaceum</i> en ausencia de hidrocarburos intemperizados.....	58
Figura 9. 6. Histoquímica de la raíz de <i>P. arundinaceum</i> en presencia de hidrocarburos intemperizados.....	60
Figura 9. 7. Degradación de HTP en diferentes tratamientos a lo largo de seis meses: A) Tratamiento sin plantas (testigo); B) tratamiento con la especie <i>P. arundinaceum</i> ; C) tratamiento con la especie <i>C. laxus</i> y D) tratamiento con ambas especies de plantas. Las barras indican una desviación estándar.....	63
Figura 9. 8. Degradación de HTP a diferentes profundidades en cuatro tratamientos, a lo largo de seis meses: A) Muestras superficiales; B) Muestras a cinco cm. y C) Muestras a diez cm. Las barras indican una desviación estándar.....	67
Figura 9. 9. Porcentaje de gravas en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras superficiales; B) muestras de cinco cm. de profundidad y C) muestras de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.....	72

Figura 9. 10. Porcentaje de arenas en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras superficiales; B) muestras de cinco cm. de profundidad y C) muestras de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.....	77
Figura 9. 11. Porcentaje de limos gruesos en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras de suelo superficiales; B) muestras de suelo de cinco cm. de profundidad y C) muestras de suelo de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.	80
Figura 9. 12. Porcentaje de arcillas y limos finos en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras de suelo superficiales; B) muestras de suelo de cinco cm. de profundidad y C) muestras de suelo de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.	82
Figura 9. 13. Diagramas de dispersión de las correlaciones múltiples del tratamiento sin plantas; A) primer mes; B) segundo mes; C); tercer mes D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.	87
Figura 9. 14. Diagramas de dispersión de las correlaciones múltiples de <i>P. arundinaceum</i> ; A) primer mes; B) segundo mes; C); tercer mes D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.	89
Figura 9. 15. Graficas de correlaciones múltiples de <i>C. laxus</i> ; A) muestras del primer mes; B) muestras del segundo mes; C); muestras del tercer mes D) muestras del cuarto mes; E) muestras del quinto mes y F) muestras del sexto mes.	91
Figura 9. 16. Graficas de correlaciones múltiples del tratamiento con ambas especies de plantas; A) muestras del primer mes; B) muestras del segundo mes; C); muestras del tercer mes D) muestras del cuarto mes; E) muestras del quinto mes y F) muestras del sexto mes	93
Figura 9. 17. Porcentaje de materia orgánica en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras de suelo superficiales; B) muestras de suelo de cinco cm. de profundidad y C) muestras de suelo de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.	96
Figura 9. 18. Graficas de correlación de materia orgánica e hidrocarburos del tratamiento de suelo sin plantas: A) primer mes; B) segundo mes; C) tercer mes; D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.	99
Figura 9. 19. Graficas de correlación de materia orgánica e hidrocarburos del tratamiento de suelo con <i>P. arundinaceum</i> : A) primer mes; B) segundo mes; C) tercer mes; D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.	101
Figura 9. 20. Graficas de correlación de materia orgánica e hidrocarburos del tratamiento de suelo con <i>C. laxus</i> : A) primer mes; B) segundo mes; C) tercer mes; D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.	102
Figura 9. 21. Graficas de correlación de materia orgánica e hidrocarburos del tratamiento de suelo con ambas especies de plantas: A) primer mes; B) segundo mes; C) tercer mes; D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.	103

Figura 9. 22. Valores promedio de pH en diferentes tratamientos durante cinco meses: A) muestras de suelo superficiales; B) muestras de suelo de cinco cm. de profundidad y C) muestras de suelo de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar. Sin valores correspondientes al primer mes del tratamiento Testigo.	106
Figura 9. 23. Número de rametos promedio en plantas de diferentes tratamientos. La barra indica una desviación estándar.	109
Figura 9. 24. Longitud máxima de hoja, en plantas de tratamientos monoespecíficos y plantas del tratamiento con ambas especies. La barra indica una desviación estándar.	109

Índice de tablas

Tabla 8. 1. Relación de suelo y crudo en suelos (w/w).....	29
Tabla 8. 2 Tinciones y observaciones en las técnicas histoquímicas.....	32
Tabla 9. 1. Concentración de HTP de los suelos.....	142
Tabla 9. 2. Caracterización de suelos.....	142
Tabla 9. 3. Promedios de variables morfométricas de <i>C. laxus</i>	143
Tabla 9. 4. Promedio de variables morfométricas de <i>P. arundinaceum</i>	143
Tabla 9. 5. Concentraciones promedio mensuales de HTP de los cuatro tratamientos.....	144
Tabla 9. 6. Concentraciones promedio mensuales de HTP por tratamiento en muestras superficiales.....	145
Tabla 9. 7. Distribución de gravas en muestras de suelo de diferentes profundidades en diferentes tratamientos a lo largo del tiempo.....	146
Tabla 9. 8. Distribución de arenas en muestras de suelo de diferentes profundidades en diferentes tratamientos a lo largo del tiempo.....	147
Tabla 9. 9. Distribución de limos gruesos en muestras de suelo de diferentes profundidades en diferentes tratamientos a lo largo del tiempo.....	148
Tabla 9. 10. Distribución arcillas y limos finos en muestras de suelo de diferentes profundidades en diferentes tratamientos a lo largo del tiempo.....	149
Tabla 9. 11. Promedio de materia orgánica presente en muestras de suelo de diferentes profundidades en cada tratamiento a lo largo del tiempo.....	150
Tabla 9. 12. Promedio de pH en muestras de suelo de diferentes profundidades, para cada tratamiento a lo largo del tiempo.....	151
Tabla 9. 13. Número de rametos promedio por especie y por tratamiento.....	152
Tabla 9. 14. Promedio de longitud máxima de hoja por especie y por tratamientos	152

RESUMEN

En este estudio, se evaluó el efecto de los hidrocarburos intemperizados en la biometría e histología de la raíz de plantas nativas de pantano *Cyperus laxus* Lam. y *Paspalum arundinaceum* Poir; así mismo, se comparó la eficiencia fitorremediadora de ambas plantas en un suelo modelo contaminado con hidrocarburos. Para lograr los objetivos planteados en tesis, se diseñaron dos experimentos principales; el primero para evaluar el efecto de los hidrocarburos en ambas especies de plantas y el segundo con la finalidad de comparar la eficiencia fitorremediadora de las dos especies de plantas.

En el primer experimento, se colocaron plantas de un mes de edad de ambas especies en muestras de suelos originarios de Minatitlan Veracruz, contaminados con hidrocarburos y un suelo sin contaminar durante un periodo de 100 días, bajo condiciones similares a las de un pantano. Al final del periodo experimental se determinaron las variables biométricas: sobrevivencia, largo máximo de hoja, largo máximo de raíz, número de raíces, peso húmedo del sistema radicular, ancho del ápice y distancia del ápice a la primera raíz lateral, para después realizar un análisis de los tejidos de la raíz a través de técnicas histoquímicas para comparar su anatomía y determinar carbohidratos insolubles neutros, mucopolisacáridos ácidos, proteínas, suberinas y ligninas.

Los datos obtenidos del análisis de las variables biométricas, indican que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las plantas de las dos especies crecidas en suelo con estrés por hidrocarburos y las plantas en un suelo sin contaminar. Por el contrario, en los análisis histoquímicos, se observaron alteraciones tales como: adsorción y absorción de compuestos en paredes celulares, inclusiones de sustancias oscuras y presencia de cristales en ambas especies de plantas en tres regiones de la raíz; a) la región de ápice; b) la región de pelos absorbentes y c) la región del aerenquima y crecimiento de raíces laterales.

Los resultados del primer experimento, permiten concluir que *C. laxus* y *P. arundinaceum*, presentan un gran tolerancia a los hidrocarburos intemperizados, la cual puede estar asociada a mecanismos de resistencia en la raíz de las plantas y con ello favorecer los procesos de fitorremediación.

En la realización del segundo experimento, para la evaluación de la eficiencia fitorremediadora, se compararon tratamientos individuales de las especies (monoespecíficos) contra un tratamiento con ambas especies y un suelo contaminado sin cobertura vegetal, durante un periodo de seis meses. Las variables de respuesta fueron concentración de hidrocarburos, tamaño de partícula, porcentaje de materia orgánica y pH en el suelo, además de dos elementos fenológicos, el número de rametos y longitud máxima foliar.

Los resultados obtenidos indican que el tratamiento con *C. laxus* mostró la mayor degradación de hidrocarburos con una disminución de 34 %, seguida del tratamiento con *P. arundinaceum* con 28 %, mientras que el tratamiento con ambas especies solo disminuyeron en un 20% y el suelo sin plantas solo el 12 %. Las variables edáficas en las unidades experimentales, revelaron una dinámica en el suelo para todos los tratamientos (con mayor claridad en las unidades sin plantas), que semeja a los procesos naturales de formación de un suelo. Así mismo, el análisis de la interacción de la concentración de hidrocarburos y las variables tamaño de partícula y materia orgánica, para los cuatro tratamientos describe una clara correlación entre la heterogeneidad del suelo modelo y la distribución de los hidrocarburos en el suelo. La comparación de los resultados de las variables número de rametos y la longitud máxima de la hoja en las plantas de los tratamientos monoespecíficos y del tratamiento con las dos especies, reveló que no existen indicios de competencia por espacio, pero existe la posibilidad de interacciones de competencia por luz entre las dos especies en el tratamiento conjunto, que interfieren de manera indirecta con la capacidad de fitorremediar los contaminantes.

Con los resultados anteriores es posible establecer las siguientes conclusiones: a) los tratamientos de suelo con plantas superan de manera clara al tratamiento sin cubierta vegetal b) de las unidades experimentales con plantas, los tratamientos monoespecíficos de *C. laxus* y *P. arundinaceum* presentaron una mayor eficiencia en la remoción de hidrocarburos que el tratamiento con ambas plantas y c) Las interacciones entre *C. laxus* y *P. arundinaceum* en el modelo estudiado, presentaron efectos adversos en la capacidad de fitorremediar suelos.

Palabras clave: Fitorremediación, suelo, biometría, histoquímica.

ABSTRACT

In this study, the effect of the hydrocarbons in the biometry and histology of the root of native marsh plants *Cyperus laxus* Lam. and *Paspalum arundinaceum* Poir; was evaluated; likewise, we compare the Phytoremediation efficiency of both plants in a soil model contaminated with hydrocarbons.

To get the aims raised in thesis, two principal experiments were designed; the first one to evaluate the effect of the hydrocarbons in both species of plants and the second one with the purpose of compares the Phytoremediation efficiency of both species of plants.

In the first experiment, there were placed plants of a month of age of both species in samples of Minatitlan Veracruz's original soils (contaminated with hydrocarbons and clean soil) during a period of 100 days, under similar conditions to those of a marsh. At the end of the experimental period the biometric variables to asses: survivor percentage, maximum length of leaf, maximum length of root, number of roots, humid weight of the root system, broadly from the apex and distance of the apex to the first lateral root, later to realize an analysis of the root histochemistry to compare his anatomy and to determine insoluble neutral carbohydrates, mucopolysaccharides acids, proteins, suberin and lignin.

The information obtained of the analysis of the biometric variables, indicates that they did not present statistically significant differences between the plants of both species grown in soil with stress for hydrocarbons and the plants in a clean soil. On the contrary, in the histochemical analyses, such alterations were observed like: adsorción and absorption of compounds in cellular walls, incorporations of dark substances and presence of crystals in both species of plants in three regions of the root; a) the region of apex; b) the region of root hairs and c) the region of the aerenchyma tissue and growth of lateral roots.

The results of the first experiment, allow to conclude that *C. laxus* and *P. arundinaceum*, present great tolerance to the hydrocarbons, which can be associated with mechanisms of resistance in the root of the plants and with it to favor the processes of Phytoremediation.

In the accomplishment of the second experiment, for the evaluation of the Phytoremediation efficiency, there were compared individual treatments of the species (monospecifics) against a treatment with both species and a soil contaminated without vegetable coverage, during a period of six months. The variables of response were concentration of hydrocarbons, size of particle, percentage of organic matter and pH in the soil, besides two phenologic elements, the number of ramets and maximum length of leaf was asses.

The results show that *C. laxus* treatment have the major percentage of degradation oh hydrocarbons whit values of 34 %, follow by 28 % of *P. arundinaceum* treatment; 20 % of two species treatment and finally 12 % for soil without plant cover. Soil variables in experimental units, reveal a dynamic in all treatments (more clear in units without plant cover), that could be as natural process of soil formation. Likewise, the analysis of the interaction of the concentration of hydrocarbons and the variables size of particle and organic matter, for four treatments a clear correlation describes between the heterogeneity of the soil model and the distribution of the hydrocarbons in the soil. The comparison of the results of the variables number of ramets and the maximum length of the leaf in the plants of the monospecific treatments and of the treatment with both species, revealed that indications of competition do not exist for space, but there exists the possibility of interactions of competition for light between both species in the joint treatment, which the pollutants interfere in an indirect way with the Phytoremediation capacity.

With the previous results it is possible to establish the following conclusions: a) the treatments of soil with plants overcome in a clear way to the treatment without vegetable cover b) of the experimental units with plants, the monospecific treatments of *C. laxus* and *P. arundinaceum* presented a major efficiency in the removal of hydrocarbons that the treatment with both plants and c) The interactions between *C. laxus* and *P. arundinaceum* in the studied model, presented adverse effects in the Phytoremediation capacity.

Key Words: Phytoremediation, soil, Biometry, histochemistry.

1. INTRODUCCIÓN

El Petróleo es reconocido como un contaminante potencial desde comienzos del siglo veinte, pero no fue hasta después de la segunda guerra mundial que la prensa popular y científica reportaron las primeras consecuencias biológicas de accidentes de barcos que derramaron crudo y combustible en el mar (Albers, 2001).

El accidente del Torrey Canyon en la Costa de Inglaterra en 1967, estimuló el interés mundial en los efectos del petróleo y los métodos para limpiar el ambiente. Así mismo, la atención sobre los efectos de los hidrocarburos en los ecosistemas cobró auge durante los años 70 y 80, sobre todo en la última parte de esta década con el derrame del Exxon Valdez en las costas de Alaska.

En la actualidad, la contaminación de agua, suelos y aire por la explotación y uso del petróleo y sus derivados es un problema de manejo público que se considera muy serio a nivel mundial (Fiorenza y col, 2000).

México, como uno de los principales productores y exportadores de petróleo en Latinoamérica no ha escapado a esta problemática, teniendo como grandes escenarios de este conflicto las regiones cálidas húmedas de México, especialmente Tabasco y Veracruz, donde el deterioro de los ecosistemas, causado por los derrames de estos contaminantes orgánicos, se ha incrementado drásticamente por la extracción y transporte de petróleo, desde que se inició la explotación de este recurso.

En estas zonas se desarrollan comunidades vegetales como los manglares y los pantanos que dependen de un delicado equilibrio para su conservación; además de considerarse como unos de los reservorios de agua para consumo humano más importantes; son ecosistemas cuya productividad primaria neta (productividad fotosintética) es de las más altas en todo el planeta (Contreras, 1993).

En este marco surge la fitorremediación como una alternativa dentro de las tecnologías ambientales para contrarrestar los efectos de la contaminación por compuestos orgánicos e inorgánicos (Shwab y col, 1998). La mayoría de las técnicas de tratamiento de suelos contaminados que utilizan plantas se basan en el uso de monocultivos, lo que deja fuera la oportunidad de comparar la acción de sistemas más complejos, cuya diversidad pudiera tener mayor oportunidad de adaptarse a las diferentes condiciones del ambiente y en consecuencia, obtener mejores resultados en la remediación de los contaminantes.

Los diferentes ciclos biológicos de las especies de plantas tienen como consecuencia lógica una diferencia en los periodos y tipo de componentes exudados al medio (Chacón, 2000); esto implica una dinámica y estructura de

rizósfera única de cada planta. Por lo tanto, las poblaciones de microorganismos que interactúan con el rizoplano de la planta también presentan una dinámica y estructura diferente para cada especie.

Cyperus laxus y *Paspalum arundinaceum* son plantas hidrófitas emergentes de comunidades inundables del sureste mexicano, que presentan una abundancia poblacional sorprendente en zonas con un alto grado de contaminación por hidrocarburos (Gallegos y col., 2000). Además, observaciones en campo reportan asociaciones de estas dos plantas en una misma comunidad, lo que presupone que son elementos dominantes que coexisten en el mismo tiempo y espacio o son componentes de una sucesión ecológica dentro del mismo ecosistema.

Los argumentos anteriores han motivado la realización de una serie de estudios por parte de diversas instituciones, dentro de las que se encuentra la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa (UAM-I) en las áreas de Biotecnología e Hidrobiología principalmente. Dichos trabajos se han enfocado principalmente en la capacidad individual de cada una de las especies para tolerar y remediar suelos contaminados.

Es así, que el presente trabajo pretende incorporarse a esta línea de investigación tratando de responder la incógnita de si dos plantas pueden fitorremediar con mayor eficiencia un suelo contaminado con hidrocarburos, que una estrategia de remediación con cada una de ellas por separado.

2. ANTECEDENTES

2.1- Fitorremediación

El término de fitorremediación proviene del griego (Phyto= planta y remediación=corregir), el cual ha sido mal empleado dado que numerosas técnicas y aplicaciones han sido llamadas así y por consiguiente han generado confusión.

Existe un gran número de definiciones de fitorremediación como las de Schnnor y col, (1995); Chaney y col, (1997); Salt y col, (1998); Bhadra y col. (1999); Hull y col, (1999), en el presente trabajo se utilizara la definición de fitorremediación de la Environmental Protection Agency (EPA) dado que fue establecida con criterios de unificación que dejan fuera las implicaciones de metodología y técnica: la fitorremediación es una tecnología emergente que utiliza plantas para degradar, extraer, contener o inmovilizar contaminantes del suelo, agua o aire (EPA, 2000).

Se han presentado distintas clasificaciones de las técnicas o métodos de fitorremediación con base en dos principales líneas: (1) el destino del contaminante y (2) los mecanismos involucrados en el proceso (IAEA-TECDOC-1088, 1999). Salt y col, (1998) resumen estos mecanismos de la siguiente manera:

- 1) Fitoextracción: Mediante sus raíces, las plantas remueven el contaminante del suelo y lo transportan dentro de sus tejidos donde los acumulan. El material biológico es cosechado para compactar y almacenar e incluso recuperar algunos metales.
- 2) Fitovolatilización: Al tomar el agua por sus raíces las plantas absorben también ciertos contaminantes que son transformados por la planta en especies químicas volátiles, que son liberadas como gases inertes por los procesos de respiración.
- 3) Rizofiltración: Este mecanismo se aplica sobretodo en tratamiento de aguas contaminadas, ya que implica el uso del sistema radicular de las plantas para absorción de los contaminantes que se encuentran en solución en el agua que rodea a la planta.
- 4) Fitoestabilización: Se define como la inmovilización de un contaminante en el suelo por acción de las raíces o el uso de las plantas para evitar la migración del contaminante por acción de viento, agua y dispersión.
- 5) Rizodegradación o Fitodegradación: Es la hidrólisis o degradación de contaminantes orgánicos en el suelo por la actividad microbiana que se encuentra asociada a la rizósfera.

La fitorremediación es una técnica con numerosas ventajas como la de tener bajos costos, se desarrolla in situ, no presenta efectos secundarios, mejora la estructura de los suelos entre otras. Sin embargo, también presenta diversas limitaciones entre las que destacan; la profundidad a la que crece la raíz, la tasa de velocidad crecimiento de la planta y el efecto de la concentración del contaminante (EPA, 2000).

La profundidad que alcance la raíz es considerada como un factor que limita el proceso, dado que la remediación con plantas requiere que los contaminantes entren en contacto con la zona de las raíces de la planta. Si los compuestos se encuentran o migran a mayores profundidades serán inaccesibles para la raíz y por lo tanto no ocurrirá ningún proceso de remediación.

La tasa de crecimiento de las plantas es un proceso natural que lleva tiempo, por lo cual, el uso de plantas en cualquier tratamiento de contaminantes requiere de lapsos mayores que los métodos tales como la electrodescontaminación, incineración, extracción del suelo por bombeo para tratamiento con biopilas entre otros, empleados en remediación (EPA, 2000).

Los sitios con concentraciones medias y bajas de contaminantes son los mejores candidatos para la remediación con plantas, ya que las cantidades elevadas de contaminante pueden crear un efecto ecotóxico e inhibir el crecimiento de las plantas (Schnnor y col, 1995).

Por lo tanto, es importante seleccionar cuidadosamente la técnica de remediación, así como las especies con las que se va a trabajar, para minimizar el efecto de las desventajas anteriores. Con base en estos puntos, se ha observado que las plantas con crecimiento vegetativo (modular) son un buen prospecto para la fitorremediación, ya que presentan un crecimiento continuo de raíces fibrosas que forman densas rizosferas que estabilizan los suelos y disminuyen el movimiento de los contaminantes.

2.2.- Plantas Fitorremediadoras

2.2.1 Cyperus laxus Lam

Cyperus laxus Lam. (1791) pertenece a la familia Cyperaceae, la cual está constituida por 123 géneros y 5000 especies aproximadamente. Planta nativa de latitudes bajas de nuestro país, herbácea de tipo perenne que puede alcanzar alturas hasta de 30 a 60 cm. Sus tallos son circulares o triangulares con un grosor de 2 a 3 mm, las hojas son lineares a linear-lanceoladas, prominentemente 3-nervias, con bordes escabriúsculos y punta acuminada, alcanzan longitudes de 15

a 20 cm. y un ancho de 3 a 9 mm. Presenta inflorescencias en subumbelas de espiguillas que presentan una forma ovada a oblongo-elíptica y un sistema de raíces de tipo fibroso que forma densas rizosferas. Su fenología reporta que florece y fructifica de febrero a noviembre (Diego-Pérez, 1997).

C. laxus se ubica en los estados de Chiapas, Guerrero, Jalisco, Edo. de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Tabasco, Veracruz, Yucatán; en América Central, las Antillas y América del Sur. Se distribuye entre los 100 y 1500 metros sobre el nivel del mar (msnm), se encuentra asociada a diversos tipos de vegetación como el Bosque tropical subcaducifolio, Bosque de Quercus-Pinus, Bosque de Quercus, Bosque tropical caducifolio, Bosque de Galería y vegetación acuática (Flora Mesoamericana, 2001).

El conocimiento que se tiene de esta planta comprende estudios sobre la liberación de exudados radicales, encontrando carbohidratos, proteínas y ácidos orgánicos de bajo peso molecular (Chacón, 2000). Así como, trabajos en los cuales se utiliza a esta especie como un elemento para evaluar efectos ecotóxicos por parte de suelos contaminados con hidrocarburos (Escalante, 2000), estudios sobre su microbiota asociada a las raíces, con capacidad de degradar compuestos orgánicos (Díaz, 2000) y evaluaciones de su capacidad de limpiar suelos contaminados con petróleo (Gómez, 2003).

2.2.2 *Paspalum arundinaceum* Poiret

Paspalum arundinaceum Poiret in Lam. (1816) pertenece a la familia de las gramíneas (Gramineae o Poaceae), con más de 500 géneros y un aproximado de 800 especies. Planta perenne cespitosa con tallos erectos simples que alcanzan de 100 a 200 cm., con entrenudos y nudos glabros. Hojas glabras con laminas lineales rígidas plegadas en la base que alcanzan 80 cm. de largo por cinco o diez mm. de ancho. Inflorescencias solitarias terminales del tipo racemosos ascendentes, una longitud de 13 a 25 cm. y un raquis de 0.5 a 1 mm. de ancho. Espiguillas obovadas, obtusas, glabras, pareadas, en 4 filas; gluma inferior ausente; gluma superior y lema inferior tan largas como la espiguilla.

Generalmente se encuentra en áreas pantanosas abiertas y se distribuye de 0 a 800 msnm. En nuestro país se puede encontrar en los estados de México, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz, fuera de México se le puede encontrar en Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, El Salvador y en estados del sur de los E.U. (Flora Mesoamericana, 2001)

2.3.- Efecto de la rizósfera.

El término rizósfera proviene de la palabra griega rhizo o rhiza (raíz) y esfera (área de influencia física alrededor de las raíces), fue utilizado por primera vez en 1904 por el alemán Lorenz Hitner, refiriéndose a la zona del suelo que es inmediata a las raíces, donde el crecimiento bacteriano se encuentra favorecido (García, 1987). Actualmente este concepto a tomando en cuenta el suelo modificado, que entra en contacto con las raíces y un perímetro o área de influencia física y fisiológica por parte de la raíz de la planta (Ferrara-Cerrato, 1989; Díaz, 2000).

En esta área se presenta un fenómeno denominado "efecto rizósfera", que consiste en el incremento de la densidad y diversidad de la microbiota del suelo por acción de la influencia de las raíces de manera directa o indirecta a través de diversos mecanismos como el flujo de sustancias provenientes de la raíz de las plantas, células descamadas, entre otros (Duinevel y col, 2001).

El flujo de varias sustancias de las raíces hacia el medio que les rodea a favor de un gradiente de concentración se denomina exudado radical (Szmigielska y col, 1996). Una de las cualidades importantes del fenómeno de exudación es la variedad de compuestos excretados por las plantas y, dentro de los más frecuentes se distinguen los carbohidratos como monosacáridos, disacáridos, trisacáridos y oligosacáridos; aminoácidos que participan en el balance de nitrógeno en el suelo como aspargina, serina, glicina entre otros; factores de crecimiento tales como biotina, tiamina e inositol; ácidos orgánicos, principalmente del grupo de los tricarboxílicos de los que destacan por su presencia el tartárico, oxálico, cítrico y el málico; ácidos grasos y esteroides como palmítico, oléico, y linoléico principalmente (García, 1987).

Los exudados de ácidos orgánicos que forman parte del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, pueden inducir cambios de pH del microambiente de la rizósfera, y estos cambios son un factor de importancia para los microorganismos, ya que pueden favorecer el desarrollo de algunos grupos y suprimir el de otros (Alexander, 1980).

Los ácidos orgánicos de bajo peso molecular funcionan también como quelantes de metales, solubilizadores de nutrientes y están relacionados con el potencial de oxidación-reducción (redox), incrementándose éste en la rizósfera (Szmigielska y col, 1996). Dentro de los diversos estudios sobre el valor de los ácidos orgánicos, es constante la presencia del ácido cítrico, como uno de los metabolitos con mayor influencia como quelante y acidificador de la rizósfera (Petersen y Botter, 1991)

En los suelos carentes de vegetación, se observa que el pH es relativamente uniforme, mientras que en los suelos cubiertos por plantas el pH desciende

alrededor de la raíz (rizósfera). De manera similar al pH, el potencial redox decrece o disminuye con la profundidad, lo cual se atribuye al deficiente transporte de oxígeno del aire al suelo y a la presencia de los ácidos orgánicos. (Zhang y Pang, 1999).

Los argumentos anteriores permiten establecer que las plantas no son blancos pasivos para la asociación de organismos; si no que son elementos activos que promueven una constante comunicación con una multitud de diversos organismos, estableciendo diversas relaciones simbióticas (Estabrook y Yoder, 1998).

2.4.- Hidrocarburos

El petróleo es una mezcla en la que coexisten tres fases sólida, líquida y gaseosa. Los hidrocarburos están constituidos por átomos de carbono e hidrógeno con pequeñas porciones de heterocompuestos con presencia de nitrógeno, azufre, oxígeno y algunos metales (IMP, 2002)

Sugiura y col (1997), agrupan a los hidrocarburos en cuatro clases de acuerdo con su solubilidad en diferentes solventes orgánicos:

- Saturados: Alcanos lineales o ramificados y cicloparafinas.
- Aromáticos: compuestos aromáticos mono, di y polinucleares que contienen cadenas alquílicas o cicloparafinas fusionadas.
- Resinas: Piridinas, quinolinosas, carbazoles, tiofenos, sulfoxidos y amidas.
- Asfaltenos: agregados de poliaromáticos, ácidos nafténicos, fenoles polihídricos, ácidos grasos y metaloparafinas

2.5.- Hidrocarburos en el suelo

El suelo es un cuerpo natural tridimensional que comprende sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases que se encuentran en la superficie de la tierra y se encuentra determinado por una o más de las siguientes características: horizontes o capas que se pueden distinguir del material inicial, como resultado de adiciones, pérdidas, transferencias o transformaciones de energía o por la capacidad de sustentar el crecimiento de las plantas (Soil Survey Staff, 1998).

La parte sólida del suelo usualmente se encuentra compuesta de una combinación de partículas minerales y materia orgánica. Las partículas minerales presentes en el suelo son muy variables en tamaño y se clasifican en fracción gruesa, compuesta por gravas (> 2mm) y la fracción fina compuesta por arenas (2 – 0.05mm), limos (0.05 – 0.002) y arcillas (< 0.002mm). La proporción de las partículas de la fracción fina determinan la textura del suelo, que es uno de los principales elementos en la clasificación de los suelos (Brady y Weil, 1999).

La cantidad de materia orgánica presente en los suelos es un factor que determina si se trata de un suelo mineral (< 20 %), o de un suelo de tipo orgánico (> 20 %) (Tinner, 1999). Así mismo, tiene gran influencia sobre muchas de las características del mismo, como son: el color, formación de agregados, plasticidad, cohesión, capacidad de retención de humedad, intercambio catiónico y aniónico, disponibilidad de N, P y S, producción de sustancias inhibidoras y activadoras del crecimiento de microorganismos del suelo, participación en los procesos pedogenéticos, por sus propiedades de peptización, coagulación y formación de quelatos (Arrieché y Pacheco, 1992).

El suelo, como una matriz heterogénea, contiene varios elementos orgánicos e inorgánicos que son capaces de interactuar de manera estructural o química con diferentes contaminantes orgánicos, estos elementos son denominados geosorbentes o sorbentes (Shih y Wu, 2002).

Los fenómenos de sorción y desorción determinan en gran medida el destino de los contaminantes, ya que un suelo con una alta capacidad de sorción disminuye la disponibilidad del compuesto y aumenta la persistencia de este en el medio.

El modelo de interacción de un geosorbente en el suelo o sedimento considera tres dominios: (i) el dominio mineral que consiste de tres tipos de sitios de sorción: a) las superficies externas de las partículas minerales; b) las capas intermedias rodeadas de arcillas y c) superficies porosas en matrices de minerales inorgánicos; (ii) el dominio de materia orgánica sorbente, que puede ser dividida en densa y ligera y (iii) el dominio de los líquidos de fase no acuosa (LFNA) (Danielsson, 2000).

En las últimas dos décadas se ha encontrado que la materia orgánica es el geosorbente principal de compuestos hidrofóbicos no iónicos y que la interacción con las partículas minerales es de menor importancia (Rhaman, 2002).

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente muchos ecosistemas se encuentran contaminados por cantidades considerables de hidrocarburos provenientes de las actividades antropogénicas. La capacidad de algunas plantas para eliminar estos compuestos orgánicos es una alternativa, poco explorada, dentro de los países de latitudes tropicales como el nuestro. Así mismo, los procesos de fitorremediación utilizados se centran en el tratamiento de los contaminantes por técnicas de monocultivos, cuya eficiencia podría mejorarse con la implementación de un mayor número de especies simultáneas.

Estudios previos en la UAM-I, han demostrado que *Cyperus laxus* y *Paspalum arundinaceum* tienen capacidad de fitoremediar suelos contaminados por hidrocarburos de manera independiente. Estos resultados plantean una nueva incógnita ¿Es posible que las especies *P. arundinaceum* y *C. laxus* juntas, pueden fitoremediar con mayor eficiencia un suelo contaminado por hidrocarburos que una estrategia con cada una de ellas por separado?

4. OBJETIVO GENERAL.

Evaluar y comparar la eficiencia fitorremediadora de *Cyperus laxus* y *Paspalum arundinaceum* en un sistema con ambas especies, así como en sistemas individuales.

5. OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Evaluar el efecto de los hidrocarburos en la biometría de la raíz de *C. laxus* y *P. arundinaceum* en suelos contaminados por hidrocarburos y en suelos sin contaminar.
2. Determinar el efecto de los hidrocarburos intemperizados en la histoquímica de la raíz de ambas especies de plantas.
3. Cuantificar los cambios en la concentración de hidrocarburos, sin considerar el efecto de la profundidad, en suelos con cuatro diferentes tratamientos.
4. Cuantificar los cambios en la concentración de hidrocarburos, considerando el factor de la profundidad, en suelos en cuatro diferentes tratamientos.
5. Caracterizar el tamaño de la partícula en muestras de suelo de diferentes profundidades.
6. Evaluar la interacción del tamaño de partícula del suelo y la concentración de hidrocarburos en el mismo.
7. Cuantificar la cantidad de materia orgánica presente en muestras de suelo de diferentes profundidades.
8. Evaluar la interacción de la materia orgánica y la concentración de hidrocarburos.
9. Determinar el área de influencia de la rizósfera en cada uno de los sistemas, por medio de medir el gradiente de pH.
10. Evaluar el efecto de la interacción entre las especies en el número de rametos y la longitud máxima de hoja.

6. HIPÓTESIS.

El trabajo se baso en el desarrollo de tres hipótesis principales:

1. Si *Cyperus laxus* y *P. arundinaceum* presentan tolerancia a suelos contaminados por Hidrocarburos; entonces existirá evidencia morfológica e histoquímica de adaptaciones de resistencia en la raíz de dichas plantas.
2. Si *Cyperus laxus* y *Paspalum arundinaceum* presentan capacidad fitorremediación de hidrocarburos; entonces una estrategia de remediación con ambas especies en suelos contaminados con hidrocarburos será más eficiente que la estrategia con dichas plantas por separado.
3. Si existe una interacción ecológica positiva entre *Cyperus laxus* y *Paspalum arundinaceum* en sistema cultivado, bajo estrés por hidrocarburos; entonces la capacidad de fitorremediación de ambas plantas se vera incrementada.

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

En la figura 7.1 se presenta de manera general la distribución de los objetivos particulares en los experimentos realizados y el resultado obtenido de cada uno de ellos; mientras que en la figura 7.2 se presenta el desarrollo de cada experimento.

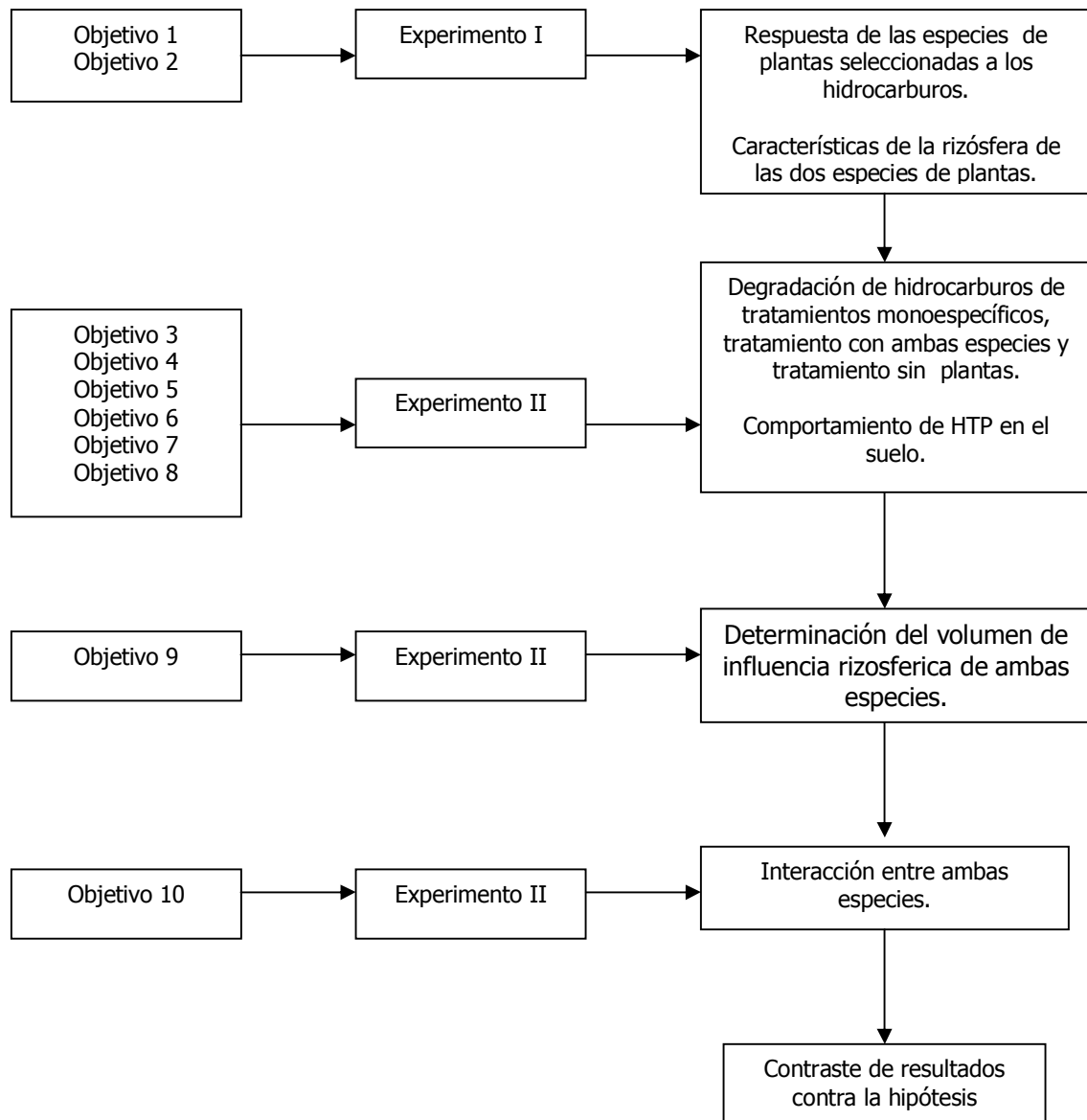


Figura 7. 1 Esquema de la distribución de los objetivos particulares en los experimentos realizados.

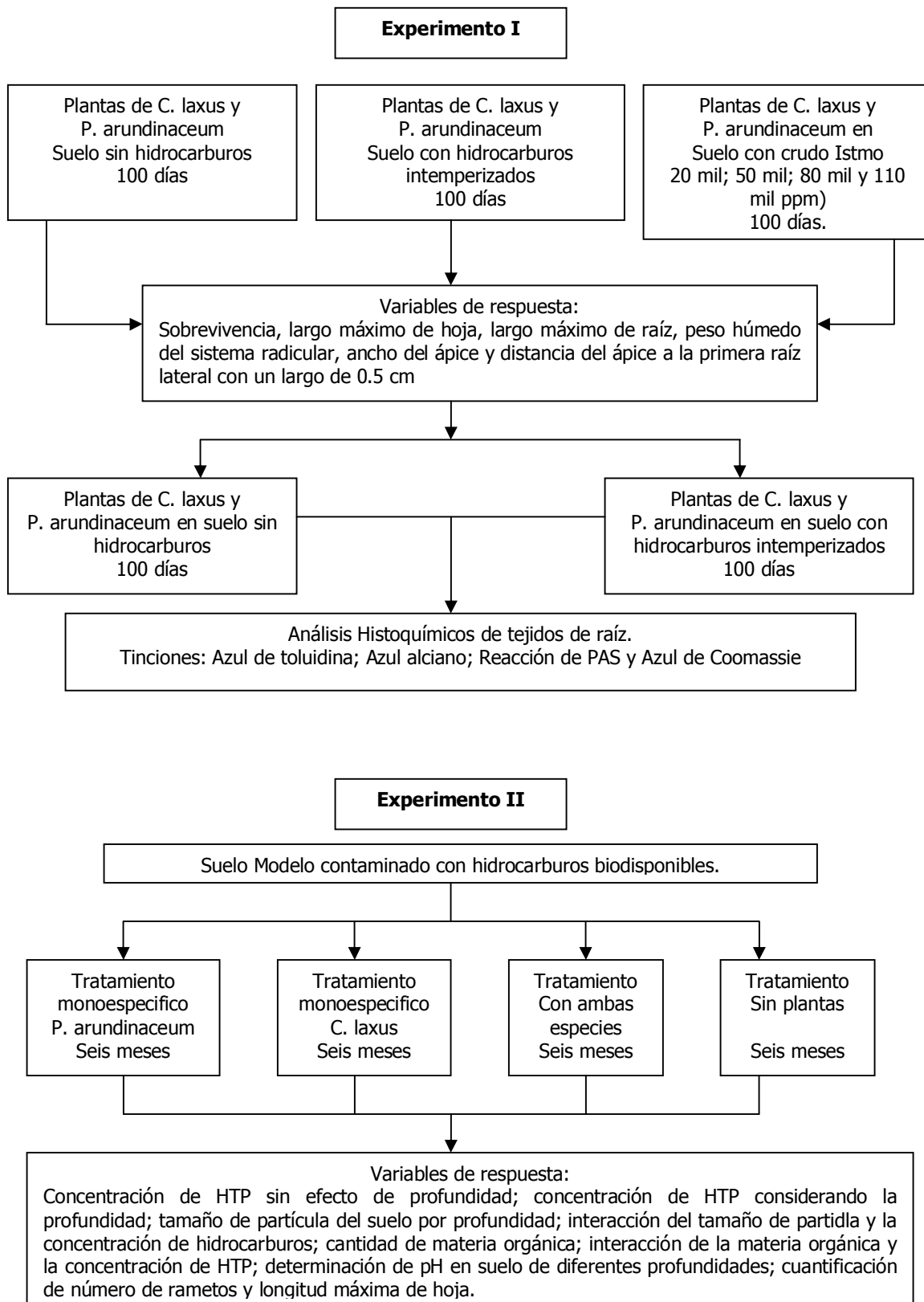


Figura 7. 2. Desarrollo general de experimentos.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

Para alcanzar los objetivos planteados, se decidió dividirlos en dos experimentos, el primero comprende los dos primeros objetivos particulares y el segundo abarca los ocho restantes.

8.1. Experimento I: Evaluación del efecto de los hidrocarburos en la biometría e histoquímica de la raíz de *C. laxus* y *P. arundinaceum*.

8.1.1. Material Biológico

Las plantas y semillas colectadas de *C. laxus* y *P. arundinaceum* son nativas de la región del pantano de Santa Alejandrina (Minatitlán, Veracruz). Las plantas fueron reproducidas (germinación y por esquejes) en el invernadero de la UAM-I en condiciones similares a las naturales, con un fotoperíodo natural, humedad relativa entre el 70 y 95%, irrigación automática determinada por la humedad y un rango de temperatura de 25 a 32 ° C.

8.1.2. Caracterización del suelo.

Se colectó suelo limpio y contaminado con hidrocarburos totales de petróleo (HTP) de la región pantanosa de Santa Alejandrina a una profundidad de 0-45 cm., que corresponde a los primeros dos horizontes del perfil edafológico (O-A). El suelo fue secado, homogenizado y se determinó la textura, el pH y la concentración de HTP.

8.1.2.1. Textura del suelo

La textura del suelo se determinó por el método del hidrómetro de Bouyoucos (Leon-Arteta, 2001) el cual determina la cantidad de sólidos midiendo la densidad de una suspensión de suelo con un hidrómetro.

Se pesaron 40 g. de la fracción fina del suelo y se colocaron en un vaso mezclador, se adiciono agua destilada hasta la mitad del vaso y 15 ml. de solución del agente dispersante (hexametafosfato de sodio). Posteriormente se mezcló por cinco minutos y se transfirió a una probeta de un litro sin dejar nada en el vaso y se aforo a un litro. Se determino la temperatura y se agitó con la varilla hasta mezclar la suspensión. Después de 40 segundos se insertó el hidrómetro en la suspensión y se determinó la cantidad de arenas, posteriormente al pasar tres horas se tomó una nueva lectura para determinar la cantidad de arcillas, la cantidad de limos se determinó de manera indirecta por la formula.

8.1.2.2. Determinación del pH

El pH del suelo es uno de los parámetros más importantes en los análisis del suelo, ya que muchas de las reacciones químicas y biológicas son controladas por el pH de la solución del suelo en equilibrio con las partículas del mismo. El pH es medido como una matriz acuosa o una solución de sales.

Se pesaron 10 g de suelo seco en un vaso de precipitados y se agregaron 20 ml. de agua desionizada en relación 1:2 (p:v). La suspensión se agitó intermitentemente por un periodo de 30 minutos, se dejó reposar por una hora en refrigeración y se colocó el electrodo en el sobrenadante y se registró el pH hasta que alcanza un valor estable. El electrodo se calibra con dos soluciones estándar (4.0 - 7.0 y 7.0 - 10.0) con valores cercanos al pH esperado en el suelo (Carter, 1993).

8.1.2.3. Determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo

En la determinación de HTP se utilizó el método de la EPA 3540 (USEPA, 1995). Este método se aplica a compuestos orgánicos insolubles o poco solubles en agua. Se basa en la extracción de componentes volátiles y no volátiles que se encuentran en suelos o sedimentos.

El procedimiento es el siguiente: se pesaron 10 g de suelo contaminado y se colocaron en un cartucho de celulosa (dedal de extracción de 33 X 80 mm.), se agregaron 10 g de sulfato de sodio dibásico anhidro y se cubrió con algodón. El cartucho se colocó en el Soxhlet y se agregó 160 ml de acetona-hexano en relación 1:1 (grado reactivo, Baker), manteniendo en reflujo durante 24 horas.

Posteriormente, se retiró el matraz y se evaporó la mezcla de acetona-hexano en un rotaevaporador, recuperando el solvente y concentrando los hidrocarburos. Los hidrocarburos extraídos se colocaron en charolas de aluminio previamente pesadas y secadas en una estufa (60° C por un periodo de dos horas). Ya que las muestras se encuentran secas, se colocaron en un desecador de sílica-gel y se pesaron regularmente durante cuatro días hasta alcanzar un peso estable.

8.1.3.-Procedimiento

Para el estudio sobre el efecto de los hidrocarburos en la morfología e histología de *C. laxus* y *P. arundinaceum* las plantas fueron sometidas a seis diferentes condiciones experimentales; 1) suelo limpio nativo del pantano de Santa Alejandrina; 2) suelo del pantano contaminado con hidrocarburos intemperizados; 3) suelo limpio del pantano contaminado en la UAM-I con crudo Istmo en una concentración de 20 mil ppm; 4) suelo limpio de pantano contaminado con crudo

en una concentración de 50 mil ppm; 5) suelo limpio de pantano contaminado con crudo en una concentración de 80 mil ppm y 6) suelo limpio del pantano contaminado con crudo en una concentración de 110 mil ppm. Las cuatro concentraciones de crudo Istmo fueron utilizadas para comparar y ubicar el grado de fitotoxicidad por parte del suelo con HTP intemperizados con respecto a un contaminante fresco. En la tabla 8.1 se presentan las relaciones de suelo y petróleo crudo para obtener las cuatro concentraciones teóricas.

Concentración ppm	Suelo Limpio (g)	Crudo Istmo (g)
20 000	980	20
50 000	950	50
80 000	920	80
110 000	890	110

Se colocó un kilogramo de suelo de cada una de las seis condiciones o tratamientos en unidades experimentales de vidrio de 30 X 40 cm. (Fig. 8.1), posteriormente se trasplantaron cinco plantas por unidad experimental, dos unidades por tratamiento para un total de doce unidades por especie. En el caso de *C. laxus* se colocaron plantas de 15 días de crecimiento y para la especie *P. arundinaceum* se colocaron rametos de plantas de un mes de edad aproximadamente por tratamiento. Se agregó 250 ml de una solución al 0.1 % de fertilizante comercial Miracle Gro (3.08 % de nitrógeno soluble en agua, 0.75% de nitrógeno de urea, 2.17 % de nitrógeno insoluble en agua, fosfato disponible 12%, potasa soluble 8%, Magnesio soluble en agua 0.50%, Boro 0.02%, Cobre quelatado 0.05%, Hierro quelatado 0.15%, Manganeso soluble en agua 0.05% y Zinc quelatado 0.05%) cada ocho días. Durante el experimento se registraron las siguientes condiciones: temperatura de 25 a 32 ° C; humedad relativa de 70 – 95 % (mantenida por un sistema de aspersión controlada de agua) y periodos de luz natural de 11 – 12 horas / día. La duración del experimento fue de 100 días.

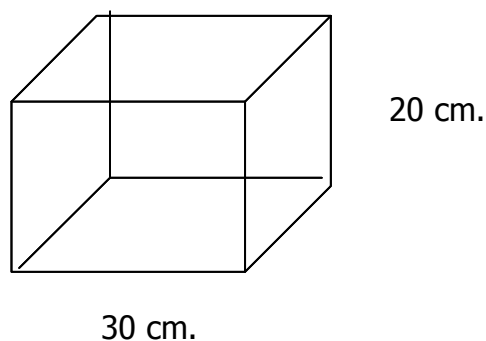


Figura 8. 1. Unidad experimental de crecimiento.

Variables de respuesta: Supervivencia, largo máximo de hoja, largo máximo de raíz, peso fresco del sistema radicular, ancho del ápice y distancia del ápice a la primera raíz lateral con un largo de 0.5 cm. y un análisis histoquímico. Posteriormente, a los resultados de las variables morfométricas de la raíz se les realizó pruebas estadísticas (paramétricas y no paramétricas) de comparación entre los tratamientos con el programa NCSS 2000.

Sobrevivencia: Se determinó contando el número de plantas que sobrevivieron al término del experimento (100 días) y se expresó en porcentaje.

Largo máximo de hoja: La medición se realizó con un vernier desde la zona de surgimiento de la hoja hasta el ápice de la misma y se aplicó el criterio de tomar la hoja más grande de cada una de las plantas al término del periodo experimental.

Largo máximo de raíz: Se seleccionó la raíz más grande del sistema radicular de cada planta y se determinó la longitud desde la base de crecimiento de la raíz hasta el ápice de la raíz con un vernier después de los 100 días.

Peso fresco de las raíces: el sistema de raíces de cada planta fue seccionado de la región del tallo y hojas para pesarse de manera directa en una balanza analítica.

Ancho del ápice: Se utilizó un microscopio estereoscópico (Leica 2004) con objetivo graduado. La raíz se colocó de manera perpendicular a la regla para obtener la medida.

Distancia a la primera raíz lateral: En esta variable se aplicó el criterio de establecer la distancia a la raíz lateral que presentara una longitud mayor de 0.5 cm. Se utilizó un microscopio estereoscópico (Leica 2004) con objetivo graduado y la raíz principal se colocó en paralelo a la regla para obtener la distancia a la raíz lateral.

Análisis histoquímico: Para este análisis las raíces se dividieron en tres regiones (Fig. 8.2) en ambas especies de plantas: a) región del ápice de la raíz, que según Archambault y col. (1996), es el sitio donde la presencia de elementos contaminantes expresan su potencial de toxicidad de una manera más clara y por lo tanto se espera que también se presenten una mayor cantidad de mecanismos de resistencia; b) la región de pelos absorbentes, que es la zona por donde se realiza la mayor cantidad de absorción de elementos en solución acuosa (Peterson y Farquhar, 1996) y c) la región de aerenquima y desarrollo de raíces laterales, dado que representa una modificación estructural vital en plantas de zonas inundables que frecuentemente enfrentan largos periodos de anoxia (Pierce, 1994).

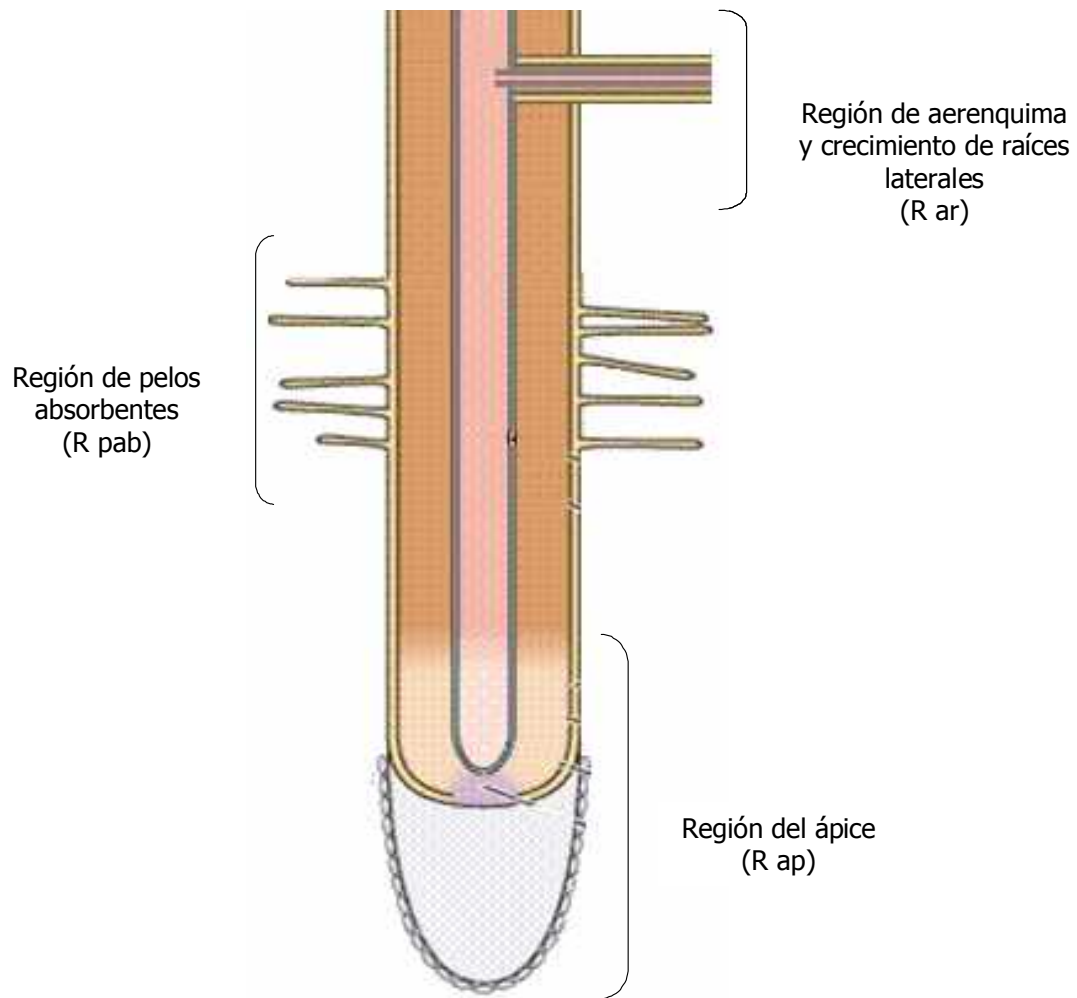


Figura 8. 2. Esquema de las regiones de corte seleccionadas en el análisis histoquímico.

8.1.4.- Procedimientos Histoquímicos.

8.1.4.1. Fijación y corte

Las muestras de tejido radicular se fijaron en formaldehído-ácido acético-etanol-agua (FAA) en una proporción de 10:5:50:35 (v/v), a temperatura ambiente durante ocho días. Se lavaron con etanol al 50 % para retirar el fijador y se procedió a deshidratar a través de lavados con una serie de alcoholes en las siguientes proporciones: 50, 70, 90, 96 y 100%. Posteriormente el tejido fue incluido en paraplast siguiendo la técnica de Ruzin (1999) para realizar cortes de 10 y 15 micrómetros de grosor en un micrótomó rotatorio.

8.1.4.2. Tinción

Las técnicas de tinción utilizadas para analizar la estructura de las células de la raíz de las plantas en presencia y ausencia de hidrocarburos se muestran en la Tabla 8.4.1.

Tinción	Uso
Azul de Toluidina	Metacromática, anatomía
Cloruro yoduro de Zinc	Ligninas, cutinas, suberinas, celulosa y hemicelulosas
Reacción de PAS	Carbohidratos insolubles
Azul alciano	Mucopolisacáridos
Azul de Coomassie R	Proteínas

8.1.4.2.1. Tinción con Azul de Toluidina (AT): Se retiró la parafina de las secciones y los portaobjetos (con el corte adherido) se colocaron en una solución acuosa de AT 0.05% durante 2-3 min. Subsecuentemente se lavaron los cortes con agua desionizada y fueron secados a temperatura ambiente (Berlinyn y Miksche, 1976).

8.1.4.2.2. Tinción con Cloruro yoduro de Zinc (CIYZn): Los cortes fueron desparafinados y teñidos con una solución de CLYZn por 20 minutos. Una vez terminado el periodo, se retiró el exceso de tinción con agua destilada (Jensen, 1962).

8.1.4.2.3. Tinción por Reacción de ácido Peryodico-Schiff's (PAS): Se removió la parafina de las secciones y se hidrataron con agua hasta el 100 %. Las secciones fueron colocadas en una solución de HIO₄ 0.5% por 10-20 min; posteriormente se trató a las secciones con el reactivo de Schiff's por 10-15 min. Se limpió el excedente de reactivo con lavados de agua y se adicionó bisulfito de sodio al 10% por 2 min (Ruzin, 1999).

8.1.4.2.4. Tinción con Azul Brillante R. o Azul Coomassie R (AC): Los cortes fueron desparafinados e hidratados con agua destilada (100%), para teñirlos con una solución 1% de azul brillante R en una solución amortiguadora de fosfatos, 0.1 M pH 5.6 durante 20-40 min; posteriormente las secciones fueron lavadas dos veces con agua destilada por tres minutos (Ruzin, 1999).

8.1.4.2.5. Tinción con Azul alciano (AA): Se removió la parafina de las secciones y se hidrataron hasta agua (100%). Las secciones fueron tratadas con una solución acuosa de azul alciano al 0.1 %, por un periodo de 30 min. Posteriormente se retiró el exceso de tinción con agua destilada (Vermeer y McCully, 1982).

8.2. Experimento II: Comparación de la eficiencia fitorremediadora y determinación del volumen rizosferico

8.2.1. Caracterización del suelo

Se utilizo un suelo modelo conformado por el suelo contaminado con HTP intemperizados del pantano de Santa Alejandrina (Minatitlan, Veracruz) y suelo compostado con una relación de 1:2 (w/w). El suelo modelo presento una textura franco arenosa (75.73 % arena, 18.19 % de limo y 6.63% arcilla), un pH de 6.54 ± 0.06 , 25.73 % de materia orgánica y una concentración de $78,260 \pm 4061.19$ ppm de HTP. Para asegurar la biodisponibilidad de los hidrocarburos se utilizo Tolueno en una relación de 47.7 ml. / k de suelo y se dejo reposar por dos días.

8.2.2. Material Biológico

Se sembraron semillas de *C. laxus* y *P. arundinaceum* en almácigos con sustrato de materia orgánica (Peat Mos) y después de un mes, las plantas fueron colocadas en bolsas individuales para su crecimiento, bajo condiciones similares a las del pantano hasta alcanzar seis meses de edad, periodo de tiempo establecido para la transferencia a las unidades experimentales.

8.2.3. Unidades experimentales

Para este experimento se diseñaron 12 unidades de acrílico de 6 mm. de grosor de 40 x 40 cm., con 18 orificios de 3 cm. de diámetro, dispuestos en intervalos de cinco cm. (Fig. 8. 3), con una capacidad $64,000 \text{ cm}^3$.



Figura 8. 3. Unidad experimental para evaluar la eficiencia fitorremediadora y el volumen de influencia rizosferica.

8.2.4. Procedimiento

En cada unidad experimental se colocaron 45 k de suelo y se humectaron por 24 h con agua. Se transplantaron 18 plantas de seis meses de edad una de las especies (*C. laxus* y *P. arundinaceum*). Se establecieron cuatro grupos experimentales; el primero de tres unidades con seis plantas de *P. arundinaceum*; el segundo por tres unidades con seis plantas de *C. laxus*; el tercero con tres unidades con la mezcla de tres plantas de *P. arundinaceum* y tres de *C. laxus* y por ultimo tres unidades sin plantas o grupo control (Fig. 8.4). Después del trasplante, se adiciono a todos los tratamientos inoculo comercial WMI 2000 (medio con bacterias degradadotas de hidrocarburos) en una relación de 200 g de inoculo / 45 k de suelo (3.5×10^{-7} UfC / g de inoculo) para enriquecer la biota de la rizósfera con bacterias con la capacidad de degradar hidrocarburos.

La duración del experimento fue de seis meses, en los cuales se mantuvieron las siguientes condiciones; temperatura promedio de 27 ± 3.5 ° C, una humedad relativa de 70 a 90 %, 13 a 14 h. de luz y de 10 a 11 h. de oscuridad y un riego de 12 l / 45 k por semana, adicionado con fertilizante comercial MiracleGrow (1g/l).

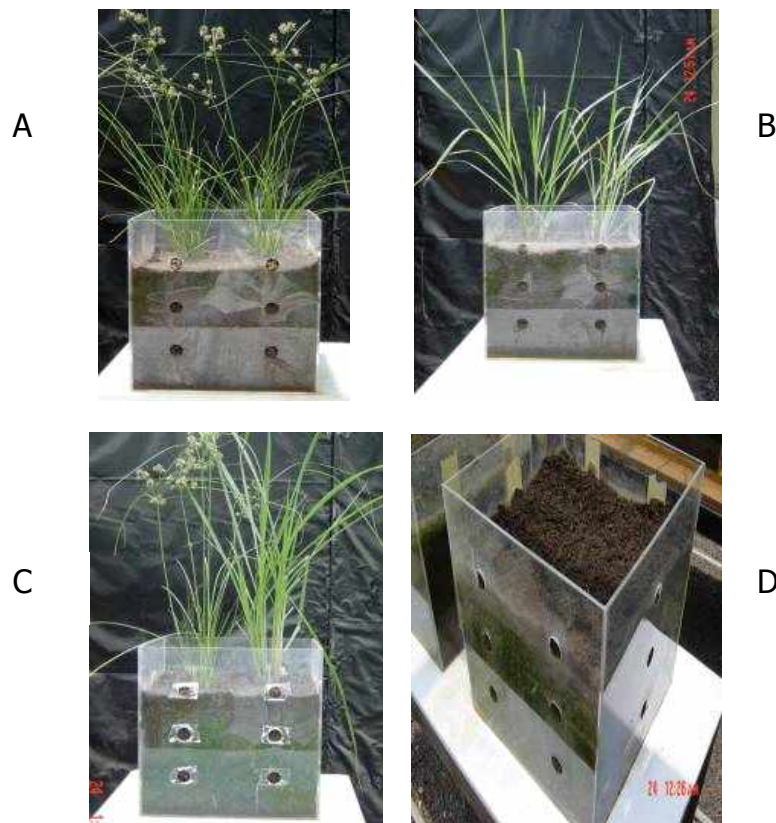


Figura 8. 4. Tratamientos de suelo A) *C. laxus*; B) *P. arundinaceum*; C) Ambas especies y D) suelo sin plantas.

VARIABLES DE RESPUESTA: Para el objetivo de la comparación de eficiencia fitorremediadora se evaluaron la concentración de HTP, tamaño de partícula, interacción del tamaño de partícula y la concentración de hidrocarburos; materia orgánica, interacción de la materia orgánica y la concentración de hidrocarburos; número de rametos y longitud máxima de hoja, mientras que en la determinación del volumen de influencia de la rizósfera se utilizó el pH como la variable de respuesta:

Concentración de HTP: Se determinó mensualmente con base en dos elementos; a) sin considerar el efecto de la profundidad en los cuatro tratamientos y b) evaluando la concentración de cada profundidad por separado en cada uno de los tratamientos. Se utilizó el método EPA 3540 explicado en la sección de suelo del experimento anterior.

Tamaño de partícula del suelo: La determinación del tamaño de partícula se realizó de manera mensual en cada una de las tres profundidades para los cuatro tratamientos y se utilizó una modificación del procedimiento de análisis granulométrico de suelos por tamizado (EVSC 427-Department of Environmental Sciences, 1994).

Las muestras de suelo se secaron el tiempo necesario para equilibrar su humedad con la del ambiente. Una vez seca la muestra, se disgregó con la ayuda de un rodillo pero sin triturar los elementos minerales presentes. En las muestras muy ricas en restos vegetales, los fragmentos de mayor tamaño se eliminaron mediante una selección manual, posteriormente se pesaron 10 g de suelo de cada una de las muestras, que se pasan por una serie de tamices en seco, separando las fracciones de gravas (>2 mm de diámetro de malla), arenas (>0.062 mm de diámetro de malla), limos gruesos (>0.044 mm de diámetro de malla) y arcillas y limos finos. Cada fracción fue pesada individualmente en charolas de aluminio a peso constante durante cinco minutos.

Interacción del tamaño de partícula y la concentración de hidrocarburos: Se determinó por medio de la aplicación de una correlación múltiple entre los resultados de la concentración de hidrocarburos mensual en cada una de las profundidades y la distribución del tamaño de partícula mensual para cada uno de los tratamientos por medio del programa NCCS 2000.

Materia orgánica: La cantidad de materia orgánica se determinó de manera mensual para cada una de las tres profundidades para cada tratamiento de manera indirecta, a través de la técnica de carbono orgánico de Walkley-Black, modificada por Nelson y Sommers (Elson y Sommers, 1982), que corrigen el factor empírico de transformación de carbono orgánico a materia orgánica de 1.72 a 2.

Este procedimiento involucra la combustión húmeda de la materia orgánica con una mezcla de dicromato de potasio y ácido sulfúrico alrededor de 125 °C. El dicromato remanente se titula con sulfato ferroso.

Las muestras de suelo fueron secadas, trituradas con mortero y pasadas a través de un tamiz de 2 mm. de diámetro de malla y retirando cualquier resto vegetal restante. Se pesaron 0.5 g de suelo en un matraz erlenmeyer de 500 ml, se agregó 10 ml. de dicromato de potasio, posteriormente se colocan 20 ml. de ácido sulfúrico por las paredes y se agitó el matraz por unos minutos. Se adicionaron 250 ml. de agua destilada y 10 ml. de ácido fosfórico y se dejó enfriar para agregar 25 gotas de solución indicadora (difenilamina) y se tituló con sulfato ferroso. El porcentaje de carbono orgánico (CO), se calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{ CO} = \frac{V_1 N_1 - V_2 N_2}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 0.399$$

V_1 = Volumen de dicromato de potasio (ml)

N_1 = Normalidad del dicromato de potasio (eq.l⁻¹)

V_2 = Volumen del sulfato ferroso gastado en la titulación (ml)

N_2 = Normalidad del sulfato ferroso (eq.l⁻¹)

0,399 = Factor de conversión.

La conversión de carbono orgánico a materia orgánica se da por la siguiente relación:

$$\text{Materia orgánica (\%)} = 2 (\% \text{ de carbono orgánico})$$

Interacción de la materia orgánica y la concentración de hidrocarburos:

Se determinó por medio de la aplicación de una correlación entre los resultados mensuales de la concentración de hidrocarburos en cada una de las profundidades y la cantidad de materia orgánica mensual determinada en las tres profundidades para cada uno de los tratamientos por medio del programa NCSS 2000.

Determinación de pH: La evaluación del pH se realizó de manera mensual en las tres profundidades para cada uno de los cuatro tratamientos por medio de la técnica de Carter (1993) descrita en la sección de suelos del experimento anterior.

Número de rametos: Para la determinación de esta variable, se aplicó la definición de Harper (1981) para organismos clonales, en la cual se define a plantas con el mismo genotipo como rametos. El conteo se realizó de manera mensual para cada una de las especies, tanto en tratamientos monoespecíficos como el tratamiento con las dos especies.

Longitud máxima de hoja: La medición se realizó con un flexómetro de tres metros de longitud desde la zona de surgimiento de la hoja hasta el ápice de la misma y se aplicó el criterio de tomar la hoja más grande de cada una de las plantas de manera mensual en los tratamientos monoespecíficos y en tratamiento con ambas especies.

9. RESULTADOS

Los resultados se presentan en relación a cada objetivo a evaluar.

9.1 Experimento I: Efecto de los hidrocarburos presentes en suelo sobre la biometría e histoquímica de la raíz de *C. laxus* y *P. arundinaceum*

9.1.1 Caracterización de suelos

El resumen de resultados y los análisis estadísticos realizados, se encuentra en las tablas 9.1 y 9.2 del anexo de tablas.

Consideraciones estadísticas.

Para la caracterización del suelo, se eligieron tres variables de repuesta, concentración de HTP, pH y textura. En la primera de ellas se utilizaron tres muestras de suelo por tratamiento ($n= 3$), a las cuales se les aplicaron pruebas de normalidad y de igualdad de varianza, para realizar la prueba de comparación de media de una población (prueba de T, para una sola población). En el caso de la variable pH, se utilizaron dos muestras por suelo ($n = 2$), a las cuales se les aplicó pruebas no paramétricas de comparaciones (Kruskal-Wallis) y por último se utilizaron dos muestras por suelo ($n = 2$), en la determinación de la textura.

Características de los suelos

Las muestras de suelo de pantano sin contaminar, presentaron una textura clasificada como franco-arenosa, con una distribución de de 87 % de arenas, 8.72 de limos y 4.28 % de arcillas, con un pH promedio de 7.22 ± 0.03 y una concentración basal de hidrocarburos de 11.6 ± 2.7 ppm.

El suelo contaminado con HTP intemperizados presentó una textura franco-arenosa, con una proporción de 81 % de arenas, 11.12 % de limos y 7.2 % de arcillas. El pH promedio determinado en las muestras de suelo fue de 3.53 ± 0.1 , valor que presenta diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.000027$) con respecto al valor observado en las muestras del suelo sin HTP. En la cuantificación de HTP, se determinó un promedio de $193,900 \pm 4,840$ ppm.

Las muestras de suelo limpio de pantano que fueron contaminadas con crudo tipo Istmo en cuatro concentraciones teóricas (20,000, 50,000, 80,000 y 110,000 ppm), presentaron el mismo tipo de textura, franco-arenosa, con ligeras variaciones en la cantidad de arena, limos y arcillas presentes. En el suelo con 20 mil ppm de crudo Istmo se encontró 84.7 % de arenas, 10.22 % de limos y 5.08 de arcillas, en muestras de 50 mil ppm 89.3 % de arenas, 7.14 % de limos y 3.56 % de arcillas, en 80 mil ppm 87.8 % de arenas, 7.51 % de limos y 4.68 % de

arcillas y en las muestras de 110 mil ppm 85.5 % de arenas, 9.32 % de limos y 5.16 de arcillas.

En la determinación de pH, suelo con 20 mil ppm de crudo mostró un promedio de 6.54 ± 0.08 , en el suelo con 50 mil ppm de crudo, el valor registrado fue de 7.09 ± 0.01 y en las muestras de 80 mil y 110 mil ppm, se encontraron promedios de 7.01 ± 0.91 y 7.32 ± 0.27 respectivamente.

La concentración de HTP en las muestras de suelo con 20 mil ppm, reportó un promedio de $23,366 \pm 1,921$ ppm, resultado que al ser comparado a través de pruebas estadísticas (prueba de T para una sola muestra), mostró tener diferencias significativas ($P = 0.046789$) con el valor teórico. El suelo con la concentración de 50 mil ppm, mostró un promedio real de $54,200 \pm 4,975$ ppm, que en la comparación estadística no reveló ninguna diferencia significativa, con el valor teórico antes establecido. Las muestras de suelo, con una concentración teórica de 80 mil presentaron un promedio real de $82,766 \pm 1,847$ sin que muestren diferencias estadísticamente significativas con los valores previamente establecidos y en las muestras de 110 mil ppm se reportó un promedio de $118,333 \pm 5,644$ ppm, el cual presentó diferencias significativas ($P = 0.042504$) con respecto al valor teórico.

9.1.2 Biometría

Las variables de respuesta evaluadas fueron: sobrevivencia de plantas, longitud máxima de hoja; longitud máxima de raíz; peso fresco del sistema radicular; ancho de la raíz a la altura del ápice y longitud del ápice a la primera raíz lateral, con un crecimiento mayor a 0.5 cm. para cada una de la especies.

El número de muestras utilizadas en cada una de las variables evaluadas, para ambas especies de plantas, el resumen de datos y los análisis estadísticos realizados se encuentran señalados en las tablas 9.3 y 9.4 correspondientes en el anexo de tablas.

Consideraciones estadísticas.

En las plantas de la especie *C. laxus*, las variables morfométricas que se evaluaron en el experimento fueron dependientes del número de plantas que sobrevivieron al efecto de los hidrocarburos, por ello las muestras variaron en número, con lo cual se tuvo que recurrir a pruebas no paramétricas, debido a que no se guardaron los principios de homocedasticidad. Las pruebas estadísticas realizadas fueron prueba de comparación de medianas de Kruskal-Wallis y pruebas de comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$).

En el caso de la especie *P. arundinaceum*, el número de plantas permitió realizar pruebas de normalidad e igualdad de varianzas, que refrendaron los supuestos estadísticos necesarios para realizar pruebas paramétricas de ANDEVA y comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ($\alpha = 0.05$).

9.1.2.1. *Cyperus laxus* Lam

- Sobrevivencia de plantas

El porcentaje de sobrevivencia de las plantas expuestas a suelos contaminados con hidrocarburos durante 100 días (Fig. 9.1.A), muestra que el suelo sin contaminantes y el suelo con 20 mil ppm de crudo Istmo presentaron la misma disminución en el número de plantas, con una pérdida de 20 % en la población (diez plantas por tratamiento). El suelo contaminado con hidrocarburos intemperizados registro una pérdida de 10 % en el número de plantas, lo cual representa una mayor sobrevivencia, comparado con el suelo sin contaminantes. Las plantas del suelo contaminado con 50 mil ppm de petróleo tipo crudo Istmo, perdieron el 30 % del total de su población al final del experimento, valor que supera al tratamiento testigo por diez unidades porcentuales. En las concentraciones con 80 mil y 110 mil ppm de crudo tipo Istmo, se observaron las mayores reducciones en la población de plantas, con una mortalidad del 70 y el 90 %, respectivamente.

- Longitud máxima de hoja

En la figura 9.1.B, se observa la grafica de promedios correspondientes a la variable de respuesta longitud máxima de hoja en plantas de *C. laxus*, en la cual se aprecia una clara tendencia de disminución en los valores en presencia de los hidrocarburos (intemperizados y crudo Istmo en sus diferentes concentraciones).

Las plantas en presencia de hidrocarburos intemperizados presentan una disminución en la longitud de la hoja con un promedio de 10.32 ± 3.78 cm. que corresponde a 43.11 % menos que el promedio registrado en las plantas del suelo sin hidrocarburos (18.14 ± 8.54 cm.).

En suelos con concentraciones de crudo Istmo con 20 mil y 50 mil ppm, las plantas de *C. laxus* mostraron un promedio similar en la longitud de la hoja, con 7.93 ± 1.11 y 7.03 ± 1.46 cm., que representan un decremento en la talla de 56.28 y 61.24 %, con respecto al valor del grupo de plantas del suelo sin HTP.

La longitud de las hojas, en plantas expuestas a crudo Istmo en concentraciones de 80 mil y 110 mil ppm, presentaron los promedios más bajos de todos, con 2.87 ± 1.07 y $4.8 \pm ND$ cm., valores que corresponden a una disminución de 84.17 y

73.53 %, en comparación al promedio observado en las plantas del suelo sin hidrocarburo.

Las pruebas estadísticas de Kruskal-Wallis realizadas a los datos anteriores, muestran claramente el establecimiento de dos grupos diferentes ($P = 0.024661$), el primero conformado por las plantas del suelo sin contaminar y por las plantas crecidas en suelo con hidrocarburos intemperizados; el segundo grupo, esta formado por las plantas de los tratamientos de crudo Istmo con 80 mil y 110 mil ppm.

- Longitud máxima de la raíz.

La grafica de la variable longitud máxima de raíz (Fig. 9.1.C), en plantas de la especie *C. laxus*, revela que la talla en raíces disminuye de manera considerable por efecto de los hidrocarburos.

Las plantas que se sometieron a estrés por hidrocarburos intemperizados, presentaron una disminución en la longitud de sus raíces, con un promedio de 7.10 ± 1.52 cm., que es 44.53 % menor al promedio del grupo de plantas crecidas en suelo sin hidrocarburos (12.8 ± 4.8 cm.).

El suelo con crudo Istmo en sus concentraciones de 20 mil y 50 mil ppm., afectaron a las raíces de las plantas de manera similar al hidrocarburo intemperizado, con valores de 7.97 ± 3.32 y 8.10 ± 3.47 cm. respectivamente, estos promedios representan una disminución en la talla de 37.74 y 36.72 %, con respecto al valor observado en las plantas sin estrés de hidrocarburos.

En las concentraciones de 80 mil y 110 mil ppm. de crudo tipo Istmo, se presentaron las menores dimensiones en longitud de raíz de todos los suelos contaminados, con valores de 3.53 ± 0.25 y $4.30 \pm ND$ cm., que en comparación con el promedio de las plantas del suelo sin HTP, son 72.42 y 66.41 % más pequeñas.

En el análisis estadístico (pruebas de Kruskal-Wallis) se observa que las plantas de suelos contaminados con hidrocarburos intemperizados, con crudo Istmo en concentraciones de 20 mil y 50 mil ppm, no presentan diferencias estadísticas con plantas del suelo sin HTP, pero la concentración de 80 mil ppm, presenta diferencias significativas ($P = 0.031703$), con respecto a la talla de las raíces de las plantas del suelo sin hidrocarburos.

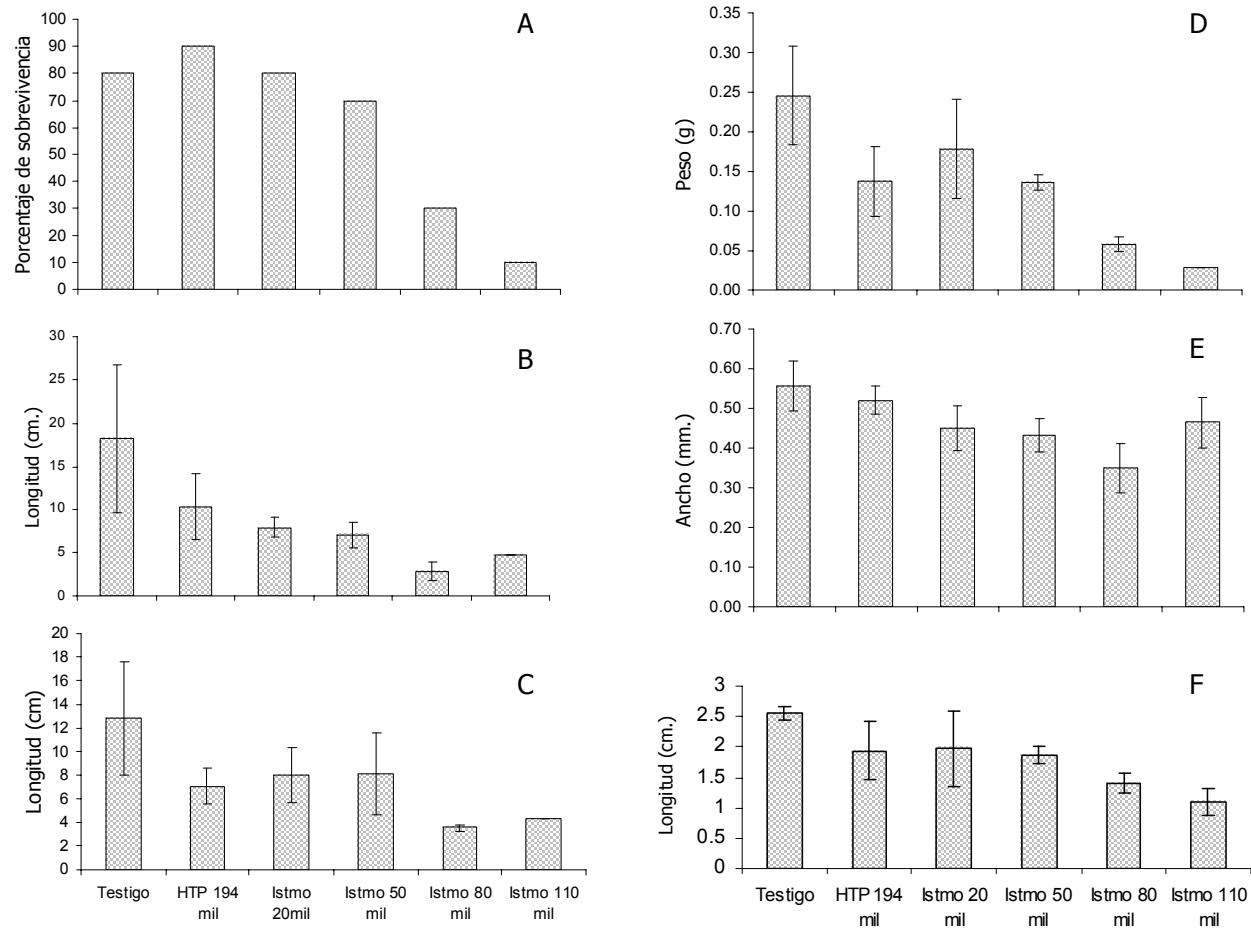


Figura 9. 1. Biometría de variables de respuesta de la especie *C. laxus*: A) sobrevivencia de plantas, B) longitud máxima de hoja; C) longitud máxima de raíz; D) peso fresco del sistema de raíces; E) ancho de la raíz a la altura del ápice y F) longitud del ápice a la primera raíz lateral, con un crecimiento mayor a 0.5 cm. La barra indica una desviación estándar.

- Peso fresco del sistema de raíces

El peso húmedo total del sistema de raíces en plantas de *C. laxus* (Fig. 9.1.D) presenta una tendencia similar a la variable anterior, con el promedio más elevado en el grupo de plantas que crecieron en el suelo sin hidrocarburo, con un peso húmedo de 0.25 ± 0.06 g.

En plantas sometidas a hidrocarburos intemperizados y las concentraciones de 20 mil y 50 mil ppm de crudo Istmo, se aprecia una reducción en el peso de las mismas proporciones entre estos tratamientos, con promedios de 0.14 ± 0.04 , 0.18 ± 0.06 y 0.14 ± 0.01 g. respectivamente, que al ser comparados con el promedio del grupo sin hidrocarburos reflejan una pérdida de peso húmedo de 44, 28 y 44 %, correspondientemente.

La pérdida de peso promedio más significativa se observa en las concentraciones de crudo de 80 y 110 mil ppm, que registran valores de 0.06 ± 0.01 y $0.03 \pm ND$ g. Los resultados de las pruebas estadísticas indican que el tratamiento de crudo Istmo con 80 mil ppm, presenta diferencias significativas ($P = 0.029424$) con las plantas del suelo sin hidrocarburos.

- Ancho de la raíz a la altura del ápice.

Los promedios de la variable ancho de ápice en plantas de *C. laxus* (Fig. 9.1.E) presentan la misma tendencia que las otras variables fenológicas, con una clara reducción en el ancho de la raíz en el ápice de las plantas de los suelos con hidrocarburos intemperizados con un promedio de 0.52 ± 0.04 mm, que en comparación con el promedio de las plantas del grupo sin estrés por HTP (0.56 ± 0.06 mm.) presentan una pérdida de 7.14 %.

Las concentraciones de crudo Istmo de 20 mil y 50 mil ppm, presentan una disminución en el ancho del ápice por efecto de los hidrocarburos, con promedios de 0.45 ± 0.05 y 0.43 ± 0.04 mm respectivamente, que representan un pérdida de 19.6 y 23.2 %.

El efecto más visible sobre esta variable, se aprecia en la concentración de 80 mil ppm de crudo, con un valor de 0.035 ± 0.06 mm, que comparado al valor del grupo sin hidrocarburos refleja un decremento del 37.5 %.

Contradictoriamente al observado en las variables fenológicas anteriores, el promedio del ancho de la raíz en las plantas de 110 mil ppm (0.47 ± 0.06 mm), es similar a los valores reportados para las concentraciones de 20 mil y 50 mil ppm. Lo cual se ve reforzado en los análisis estadísticos comparativos, en donde se observa que solo el grupo de plantas crecidas en suelo contaminado con 50 mil y 80 mil ppm de crudo Istmo, conforman un grupo estadísticamente diferente

($P=0.004848$) a las plantas del suelo sin hidrocarburos y con hidrocarburos intemperizados.

- Distancia a la primera raíz lateral

La figura 9.1.F, muestra la grafica de los promedios de distancia a la primera raíz lateral en plantas sujetas a estrés con hidrocarburos y en ausencia de ellos, en la cual se observa que el tratamiento con hidrocarburos intemperizados y las plantas expuestas a concentraciones de 20 mil y 50 mil ppm de crudo Istmo presentaron una misma tendencia, con una disminución en la distancia a la primera raíz lateral con promedios de 1.9 ± 0.49 , 1.97 ± 0.61 y 1.87 ± 0.129 mm, que comparados con el valor de las raíces de plantas de suelo sin contaminar (2.56 ± 0.11), presentan una decremento de 25.7, 23 y 26.9 %, correspondientemente.

Las concentraciones de crudo Istmo de 80 mil y 110 mil ppm, presentaron los promedios más bajos con 1.4 ± 0.17 y 1.1 ± 0.21 mm, que comparados con respecto al testigo, describen un decrecimiento de 45.3 y 57.03 %.

En los análisis comparativos entre tratamientos, se observa que las plantas de la especie *C. laxus* en concentraciones superiores a las 50 mil ppm, presentan diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.008268$), con respecto a las plantas expuestas a los otros tratamientos.

9.1.2.2. Paspalum arundinaceum Poir.

- Sobrevivencia de plantas

En el caso de las variables fenológicas de *P. arundinaceum* (Fig. 9.2), no se observa una tendencia clara por efecto de los hidrocarburos.

La figura 9.2.A presenta la grafica de porcentajes de plantas que sobrevivieron a la exposición de suelos contaminados con hidrocarburos durante 100 días, en la cual se observa que las plantas colocadas en un suelo sin hidrocarburos y las sometidas a 80 mil ppm de crudo, reportaron la mayor disminución con 20 % de mortalidad, con respecto al número inicial de plantas por tratamiento (10 plantas).

En suelos con 50 mil y 110 mil ppm, se reporto una mortalidad de 10 %, que es menor a la observada en el grupo de plantas del suelo sin hidrocarburos, mientras que en los suelos con hidrocarburos intemperizados y con crudo Istmo en 20 mil ppm., no se presento ninguna disminución en el número de plantas.

- Longitud máxima de la hoja

En la figura 9.2.B, se observa la grafica de los promedios correspondientes a la variable de respuesta longitud máxima de hoja en plantas de *P. arundinaceum*, que muestran un incremento de 19 % en la talla de las plantas del suelos contaminados con HTP intemperizados (28.4 ± 8.47 cm.), comparados con las plantas crecidas en suelos sin hidrocarburos (23.86 ± 10.85 cm.).

Las hojas de las plantas del tratamiento con 20 mil ppm de crudo tipo Istmo, presentan los promedios más altos de todas las plantas con 35.26 ± 8.19 cm. de longitud (47.7 % más grandes que el grupo sin hidrocarburos), mientras que las plantas crecidas en los tratamientos con 50 mil y 80 mil ppm, se presentan valores similares a las plantas del suelo con hidrocarburos intemperizados, con una longitud promedio de 28 ± 9.71 y 28.5 ± 5.65 cm., respectivamente.

Las plantas del tratamiento con 110 mil ppm, son las únicas que presentan un promedio de longitud de hoja ($16.64 + 9.79$ cm.) por debajo del observado en plantas del suelo sin contaminar, con una disminución de talla del 30 %. Comparando este valor con el máximo observado en las plantas del suelo con 50 mil ppm., se aprecia una reducción de 52 % en la longitud de hoja. Sin embargo, no se registra ninguna diferencia con las pruebas estadísticas entre los valores de longitud de hoja de las plantas en los diferentes tratamientos.

- Longitud máxima de raíz.

En la variable de longitud de la raíz (Fig.9.2.C) se observa que las raíces de plantas sin estrés por contaminación, presentan valores de longitud más grandes (38.4 ± 17.25 cm.) que los registrados en plantas de suelos contaminados. En plantas de suelos con hidrocarburos intemperizados se presenta una disminución del 43.5 % en comparación a la longitud de las raíces del suelo sin HTP, con un promedio final de 21.69 ± 11.83 cm.

En la concentración de crudo Istmo de 20 mil ppm, se aprecia el segundo valor más alto en la talla de las raíces, con un promedio de 32.12 ± 11.5 cm., que corresponde una disminución de 16.35 % con respecto a el grupo de plantas sin estrés por contaminación.

Las raíces de plantas expuestas a concentraciones de crudo de 50 mil, 80 mil y 110 mil ppm, registraron valores (25.1 ± 7.36 , 20.62 ± 8.8 y 20.55 ± 8.62 cm., respectivamente) cercanos al encontrado en el suelo con contaminantes intemperizados, pero el análisis comparativo, no mostró diferencias ni grupos estadísticos definidos entre todos los tratamientos.

- Peso fresco del sistema de raíces.

En la figura 9.2.D se muestra la grafica del peso fresco del sistema de raíces de las plantas de *P. arundinaceum* en los diferentes tratamientos, donde se observa un comportamiento muy homogéneo entre los promedios de los diferentes tratamientos.

En las plantas crecidas en ausencia de hidrocarburos, se determinó el máximo peso fresco, con un promedio final de 13.63 ± 1.42 g, superando por 19.3 % al peso de las raíces de tratamiento con hidrocarburos intemperizados (11 ± 1.16 g), que a su vez mostró ser menor al observado en los tratamientos de crudo en concentraciones de 20 mil, 50 mil y 80 mil ppm, que presentaron promedios de peso húmedo similares con 12.58 ± 1.06 , 12.06 ± 2.42 y 12.52 ± 2.6 g.

La concentración de crudo 110 mil ppm de crudo Istmo, presentó el promedio más bajo de todos con $10.12 + 3.73$ g, que refleja una disminución de 25.75 % comparado con el peso de las plantas crecidas en suelo sin contaminar.

En el análisis estadístico de comparación entre los tratamientos (ANDEVA), no se observan diferencias significativas entre los datos de peso de las plantas crecidas en los diferentes suelos.

- Ancho de la raíz a la altura del ápice.

En la grafica de promedios del ancho del ápice (Fig.9.2.E), se observa que las raíces de plantas del suelo sin HTP tienen un ápice más ancho en promedio (1.02 ± 0.24 mm.), que las de plantas expuestas a hidrocarburos. Sin embargo, no se aprecia ninguna diferencia estadística en comparación con el promedio del tratamiento con hidrocarburos intemperizados (0.99 ± 0.24 mm.).

En las concentraciones de crudo Istmo de 50 mil, 80 mil y 110 mil ppm, los valores reportados para el ancho del ápice (0.99 ± 0.12 , 0.98 ± 0.17 y 0.95 ± 0.19 mm) son parecidos al reportado en las plantas con hidrocarburos intemperizados, mientras que la concentración de 20 mil ppm, presenta un adelgazamiento del 14.5 % en el ápice de la raíz (comparado con las plantas de suelo sin HTP), con un promedio de 0.87 ± 0.06 mm. El análisis comparativo de estos resultados, no ofrece diferencias estadísticas entre los grupos.

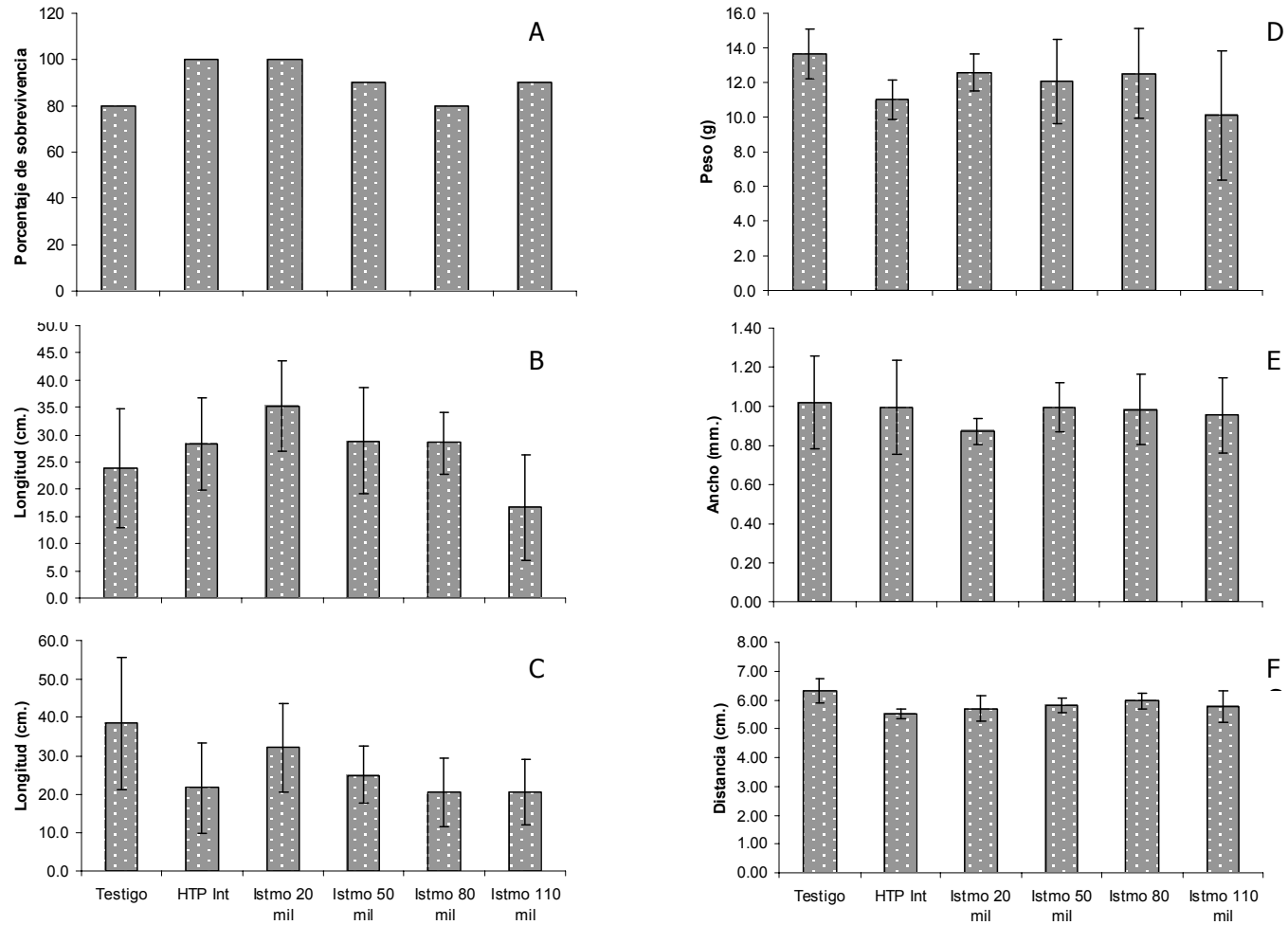


Figura 9. 2. Biometría de las variables de respuesta de la especie *P. arundinaceum*: A) sobrevivencia de plantas, B) longitud máxima de hoja; C) longitud máxima de raíz; D) peso fresco del sistema radicular; E) ancho de la raíz a la altura del ápice y F) longitud del ápice a la primera raíz lateral, con un crecimiento mayor a 0.5 cm. La barra indica una desviación estándar.

- Distancia a la primera raíz lateral

En la figura 9.2.F, se muestra la grafica de promedios de distancia del ápice de la raíz a la primera raíz lateral, mayor de 0.5 cm., en la que se observa que las raíces de las plantas del tratamiento sin hidrocarburos promedian una mayor distancia a la primera raíz lateral (6.33 ± 0.42 cm.), que la determinada en plantas del tratamiento con HTP intemperizados (5.51 ± 0.17 cm.).

Las raíces expuestas a las cuatro concentraciones de crudo Istmo, presentaron promedios por arriba del observado en las muestras del suelo con hidrocarburos intemperizados, con 5.69 ± 0.43 cm., en 20 mil ppm., 5.82 ± 0.25 cm., en 50 mil 5.96 ± 0.27 cm., en 80 mil y 5.77 ± 0.55 cm. en 110 mil ppm, reflejando un comportamiento parecido a las variables anteriores, ya que no se aprecia ninguna diferencia significativa en las pruebas estadísticas entre los tratamientos.

9.1.3. Aspectos Histoquímicos

Para realizar la pruebas histoquímicas, se seleccionaron raíces de diferentes plantas expuestas a estrés por hidrocarburos intemperizados y raíces de plantas en ausencia de HTP.

9.1.3.1. Cyperus laxus Lam

a) Raíces en ausencia de hidrocarburos

En la figura 9.3. se muestra una serie de fotografías correspondientes a cortes realizados a la raíz de *Cyperus laxus* sin hidrocarburos, la secuencia corresponde a tres niveles de corte, el primero es la zona o región del ápice (R ap); el segundo la zona o región de pelos absorbentes (R pab) y por ultimo la región de aerenquima (R ar).

En Rap, la raíz presenta una capa de mucílago que la recubre desde la cofia o piloriza, hasta la zona de los primeros pelos absorbentes (Fig. 9.3.A). El estrato mucilaginoso encontrado, se mezcla y recubre a las células de forma alargada de la cofia y presenta una reacción positiva intensa con la prueba de PAS (Fig. 9.3.B), esta misma intensidad de reacción se aprecia con la tinción de A.A. y de manera más tenue con AC (fotos no mostradas). Conforme se asciende en el corte, la capa de mucílago no pierde su afinidad por la tinción de PAS (Fig. 9.3.C), sin embargo la capa de mucílago no presenta una reacción positiva cuando se trata al corte con la tinción de ClIZn. (Fig. 9.3.D).

En el tejido epidérmico y de la corteza, las paredes de las células presentan una reacción positiva con PAS (Fig. 9.3.C), sin llegar a ser tan intensa como la observada en el mucílago, pero al tratar las secciones con AA. (Fig. 9.3.E), la intensidad de la reacción es similar entre los tejidos y la capa de mucílago. Para los cortes teñidos con AC se observa que las paredes de las células se tiñen de manera diferencial y con mayor intensidad con respecto a la capa mucilagínosa (foto no mostrada) y con ClIZn las células de epidermis mostraron una reacción intensa (Fig. 9.3.D).

Las paredes de las células de la corteza presentan un engrosamiento marcado en la zona de alargamiento y diferenciación, que se observa de manera clara en la figura 9.3.H, la cual está teñida con AA.

En cortes correspondientes a la Rpa, se observa el surgimiento de una joven raíz lateral en el área del cilindro vascular (tetarco), que presenta una clara reacción positiva con el tratamiento de AA (Fig. 9.3.F y 9.3.J). Los tejidos del sistema conductor se encuentran rodeados por la endodermis que presenta una serie de engrosamientos y por células de la corteza que tienen un marcado engrosamiento y elementos birrefringentes asociados a las paredes que denotan una clara reacción positiva con la tinción de AA (Fig. 9.3.I) y con la tinción de ClIZn. (Foto no mostrada).

El tejido epidérmico (monoestratificado) presenta una clara reacción positiva con la tinción AA y con ClIZn en las paredes de las células y en los pelos absorbentes (Fig. 9.3.G).

En la Rar se aprecia que la epidermis de la raíz puede ser mono o biestratificada y carece de pelos absorbentes (Fig. 9.3.K) y presenta una clara reacción positiva con la tinción ClIZn. (Foto no mostrada). Mientras que las células de la corteza, anteriormente con forma poliedrica, presentan tres formas, la primera, con células grandes de tipo columna; la segunda con células muy alargadas (Fig. 9.3.L) y por último, las células de la corteza cercanas a la endodermis, con una forma rectangular de dos a tres capas que presentan un engrosamiento de las paredes y una coloración rojiza con elementos birrefringentes asociados a su pared (Fig. 9.3.M). Esta coloración observada en las células de la corteza en secciones en fresco y en las secciones fijadas e incluidas, no interfiere con las tinciones, como se observa en la reacción positiva de AA (Fig. 9.3.N) y ClIZn (Fig. 9.3.O).

En la zona del cilindro vascular, se aprecian una serie de cambios en los tejidos conductores, cambiando de un cilindro vascular tetarco a uno de tipo poliarco, conforme se acerca a la zona de conexión con el tallo y la endodermis presenta engrosamientos birrefringentes (Foto no mostrada).

b) Raíces en presencia de hidrocarburos intemperizados

En la figura 9.4. se muestra la serie de fotografías correspondientes a las plantas de *C. laxus* en presencia de HTP intemperizados, en las tres regiones seleccionadas para las pruebas histoquímicas.

En los cortes de raíz a nivel de la Rap, se observa la presencia del estrato de mucílago que recubre a la raíz desde la caliptra, hasta la zona de pelos absorbentes, reaccionando de manera positiva a la tinción de AA (Fig. 9.4.A). La capa mucilaginosa interacciona con las células de forma alargada presentes en la caliptra, como se observa en la reacción positiva a la tinción de AA (Fig. 9.4.B), PAS y AC (Fotos no mostradas), mientras que con ClIZn. no observa ninguna reacción por parte del mucílago (Fig. 9.4.C) siendo la tinción a nivel celular. En la parte superior del corte del ápice, se aprecia que el estrato mucilaginoso presenta la misma afinidad por la tinción de AA (Fig. 9.4.D) y escasa reacción con ClIZn (Fig. 9.4.E). En los cortes analizados no se aprecia ninguna alteración en la capa del mucílago por efecto de los hidrocarburos.

Las células de la cofia presentan una coloración pardo oscura, extra e intracelular en los estratos que se encuentran en contacto directo con el suelo (Fig. 9.4.C), característica de manera particular interfiere con las tinciones de PAS, AC (Fotos no mostradas).

En las paredes de las células epidérmicas (monoestratificadas) y de la corteza, se aprecia una intensa reacción con los tratamientos de AA (Fig. 9.4.D), PAS y con AC (Fotos no mostradas). Sin embargo, una característica importante de la epidermis es la reacción que se observa con la tinción de ClIZn, situación que no se presenta en las células de la corteza (Fig. 9.4.E).

La Rpab presenta una diferencia en la epidermis, la cual adquiere una ligera tonalidad oscura en las paredes que interfiere con la tinción de ClIZn. (Fig. 9.4.G) y de manera menos evidente con AA, PAS y AC (Foto no mostradas), Así mismo, se observa la inclusión de estructuras cristalinas alojadas entre las células de la epidermis (Fig. 9.4.K) y la presencia de una marcada birrefringencia al rededor de los pelos absorbentes (Fig. 9.4.G).

En el tejido parenquimatoso (poliédrico multíestratificado) de la corteza se observa la presencia de depósitos extra e intracelulares de material oscuro de diferentes tamaños y formas, así como una serie de estructuras cristalinas asociadas a las paredes o en el interior de las células (Fig. 9.4.H y Fig. 9.4.I). Estas inclusiones no presentan ningún tipo de efecto de interferencia con las tinciones utilizadas, produciéndose las reacciones positivas esperadas con todas ellas.

Las células de parénquima más cercanas a la endodermis presentan un claro engrosamiento y birrefringencia, que al ser sometidas a tratamiento de CIIZn, reaccionan de manera positiva (Fig. 9.4.J).

En los tejidos conductores ubicados en la zona de pelos absorbentes, no se aprecia ninguna diferencia entre las plantas sujetas a estrés por hidrocarburo y las plantas de suelo sin contaminar (Fotos no mostradas).

En la Rar, la serie de depósitos y estructuras cristalinas asociadas a las células de la corteza en la zona de pelos absorbentes, desaparecen con la formación del aerenquima. Sin embargo, en cortes correspondientes a esta región asociados al crecimiento de una raíz lateral, se aprecia de una serie de depósitos oscuros en las células de la epidermis y a las de la corteza de la raíz lateral (Fig. 9.4.L). Así mismo, se pueden observar una serie de estructuras cristalinas amorfas asociadas a la zona de crecimiento de la raíz lateral (Fig.9.4.M).

En otras secciones de esta misma región de la raíz, se aprecia que las células de la corteza cercanas a la endodermis presentan una serie de engrosamientos y una pigmentación rojo oscuro que a diferencia de su contraparte (raíces sin HTP) interfieren con la tinción de CIIZn y presentan birrefringencia (Fig. 9.4.N).

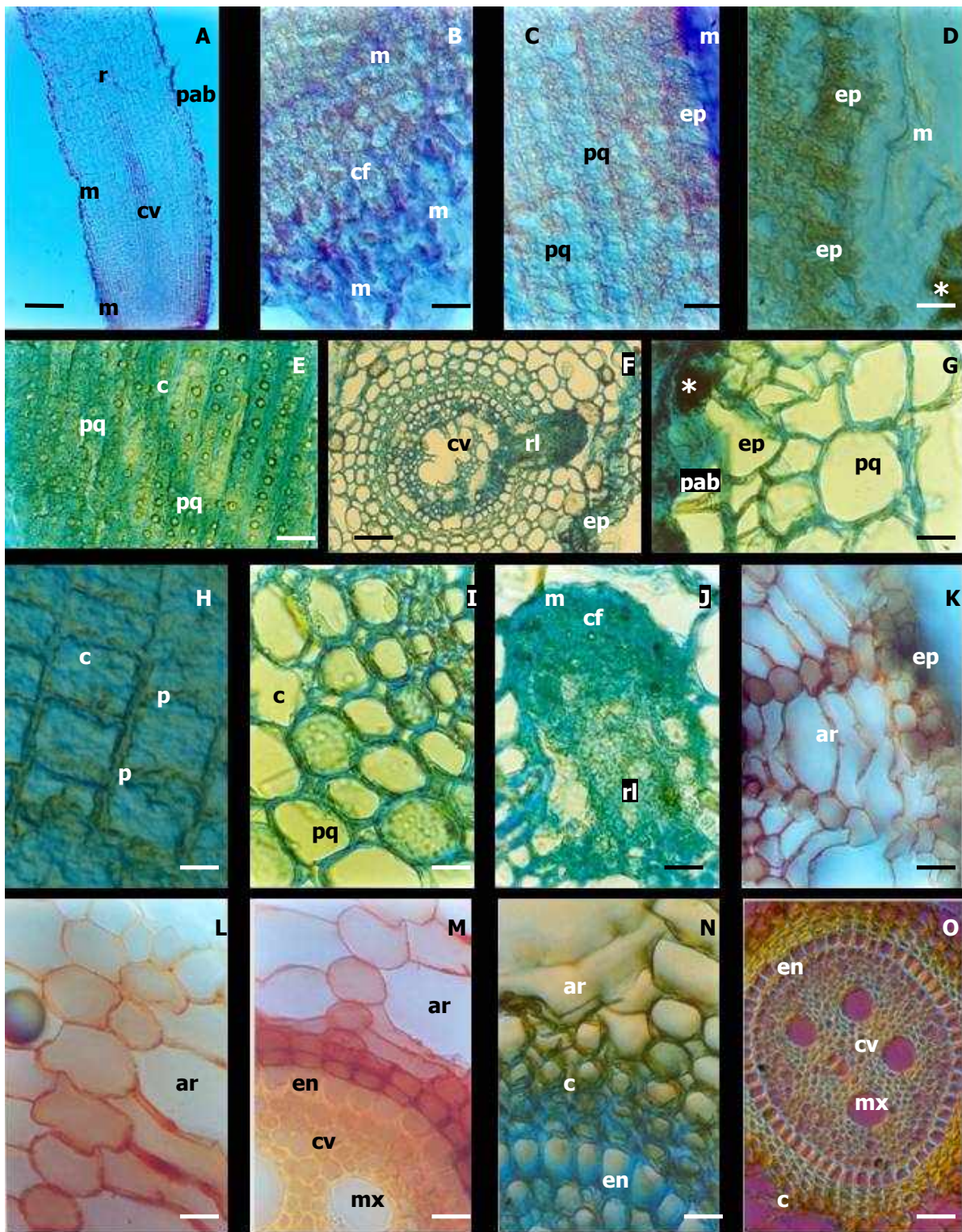


Figura 9. 3. Histoquímica de raíz de *Cyperus laxus* en ausencia de hidrocarburos intemperizados.

Pie de Figura 9.3. Histoquímica de raíz de *Cyperus laxus* en ausencia de HTP: **A)** Corte longitudinal lateral del raíz, teñida con PAS. Presencia de estrato mucilaginoso que rodea a la raíz. Microscopia Nm; **B)** Corte longitudinal medial de raíz, zona de la cofia tratada con PAS. Reacción positiva intensa en paredes de células y en la capa de mucílago que rodea a la cofia. Microscopia Nm.; **C)** Corte longitudinal lateral de raíz, zona lateral del ápice teñida con PAS. Reacción positiva intensa en células de la epidermis, corteza y en la capa de mucílago. Microscopia Nm; **D)** Corte longitudinal lateral de raíz, zona lateral del ápice tratado con Cl I Zn. La epidermis de la raíz presenta reacción positiva a la tinción, mientras que el mucílago no presenta reacción. Microscopia Nm; **E)** Corte longitudinal medial de raíz, zona de la corteza teñida con AA. Células de parénquima con reacción positiva intensa a la tinción. Microscopia Nm; **F)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes tratada con AA. Surgimiento de raíz lateral con una reacción positiva intensa a la tinción, paredes celulares de parénquima de la raíz principal presenta reacción positiva. Microscopia Nm; **G)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes teñida con AA. Paredes de células epidérmicas y de la corteza teñidas con colorante y pelo absorbente en contacto con partículas de suelo. Microscopia Cf.; **H)** Corte longitudinal de ápice de raíz tratada con AA. Engrosamiento en paredes de células de corteza. Microscopia Nm.; **I)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes tratada con AA. Células del parénquima con engrosamientos y birrefringencia en los estratos más cercanos a la endodermis. Microscopia Nm.; **J)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes teñida con AA. Acercamiento a la joven raíz lateral, que presenta una intensa reacción con la tinción en el ápice. Microscopia Cf.; **K)** Corte transversal de raíz en fresco, zona de aerenquima. Tejido de la corteza diferenciado en aerenquima, con epidermis biestratificada y presencia de una coloración roja en las paredes celulares. Microscopia Nm.; **L)** Corte transversal de raíz en fresco, zona de aerenquima. Células de la corteza diferenciadas en dos, células de soporte en forma de columna y células alargadas. Microscopia Nm.; **M)** Corte transversal de raíz en fresco, zona de aerenquima. Células de la corteza cercanas al cilindro vascular teñidas de rojo, con engrosamientos y birrefringencia. Microscopia Nm.; **N)** Corte transversal de raíz, zona de aerenquima tratada con AA. Endodermis y células de la corteza cercanas al cilindro vascular con reacción positiva intensa. Microscopia Nm. y **O)** Corte transversal de raíz, zona de aerenquima teñida con ClI Zn. Células de la endodermis y de la corteza con reacción positiva a la tinción y presencia de birrefringencia. Microscopia Nm. **Abreviaturas:** Aerenquima (**ar**); cilindro vascular (**cv**); corteza (**c**); cofia (**cf**); Epidermis (**ep**); endodermis (**en**); metaxilema (**mx**); mucílago (**m**); partícula de suelo (*); pared celular (**p**); pelo absorbente (**pab**), parenquima (**pq**); placa perforada (**pp**); raíz (**r**); raíz lateral (**rl**). Microscopia de contraste diferencial de interferencia "Nomarski" (**Nm**). Microscopia de contraste de fases (**Cf**). **Escalas.** Fig. A barra = **838** μm ; Fig. K barra = **210** μm ; Fig. E, F y G barra = **90** μm y Fig. B, C, D, H, I, J, L, M, N y O barra = **88** μm . **Regiones de corte.** Rap (Fig. A, B, C, D, E, H); Rpab (Fig. F, G, I J); Rar (Fig. K, L, M, N, O). **Página anterior.**

Pie de Figura 9.4. Histoquímica de raíz de *Cyperus laxus* en presencia de HTP: **A)** Corte longitudinal medial del ápice de raíz tratada con AA. Capa mucilaginoso que recubre a la raíz desde la cofia hasta la parte de los pelos absorbentes. Microscopia Nm.; **B)** Corte longitudinal medial de ápice, zona de la cofia teñida con AA. Reacción positiva a la tinción en las paredes de células alargadas en la cofia y en mucílago. Microscopia Nm.; **C)** Corte longitudinal medial de raíz, zona de la cofia tratada con Cl I Zn. Presencia de coloración pardo oscura (flecha) en las células alargadas de la cofia con poca reacción a la tinción en el mucílago y más intensa en el interior de las células. Microscopia Nm.; **D)** Corte longitudinal medial de raíz, zona lateral del ápice teñida con AA. Reacción positiva intensa en mucílago, epidermis y corteza. Microscopia Nm.; **E)** Corte longitudinal de raíz, zona lateral del ápice tratada con Cl I Zn. Tinción diferencial entre el mucílago con una nula reacción al tratamiento y células de la epidermis con clara reacción positiva. Microscopia Nm.; **F)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes teñida con AA. Inclusión de material oscuro (flecha) en espacios intercelulares del parénquima de la corteza. Microscopia Nm.; **G)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes tratada con Cl I Zn. Pelo absorbente con una cubierta birrefringente, células de la epidermis con coloración oscura en las paredes (flecha). Microscopia Nm.; **H)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes teñida con AA. Inclusiones extra e intracelulares de material oscuro (flecha) y estructuras cristalinas (flecha) en el tejido de la corteza. Microscopia Nm.; **I)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes tratada con Cl I Zn. Inclusión de material oscuro (flecha) en espacio intercelular del tejido parenquimatoso de la corteza. Microscopia Nm.; **J)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes teñida con Cl I Zn. Engrosamiento de las paredes de células de la corteza con elementos birrefringentes. Microscopia Nm.; **K)** Corte transversal de raíz, zona de pelos absorbentes tratada con AT. Estructuras cristalinas (flecha) alojadas entre las células epidérmicas. Microscopia Nm.; **L)** Corte transversal de raíz, zona de aerenquima con crecimiento de raíz lateral, tratada con AA. Adsorción de materia pardo oscura (flechas) en paredes de células epidérmicas y de la corteza de la raíz lateral. Microscopia Nm.; **M)** Corte transversal de raíz, zona de aerenquima y de crecimiento de raíz lateral, tratada con AT. Inclusión de estructuras cristalinas (flecha) en la corteza y epidermis de la raíz lateral. Microscopia Nm. y **N)** corte transversal de raíz, zona de aerenquima tratada con A. A. reacción positiva intensa en elementos del sistema conductor y en endodermis, células de la corteza con engrosamiento de paredes y coloración roja (cabeza de flecha). Microscopia Nm. **Abreviaturas:** Aerenquima (**ar**); cilindro vascular (**cv**); corteza (**c**); cofia (**cf**); Epidermis (**ep**); endodermis (**en**); metaxilema (**mx**); mucílago (**m**); partícula de suelo (*); pared celular (**p**); pelo absorbente (**pab**), parenquima (**pq**); placa perforada (**pp**); raíz (**r**); raíz lateral (**rl**). Microscopia de contraste diferencial de interferencia "Nomarski" (**Nm**). Microscopia de campo claro (**cc**). **Escalas.** Fig. A. barra = **857** μm , Fig. F barra = **427** μm , Fig. H barra = **185** μm ; Fig. B, C, D y E barra = **89** μm y Fig. G, I, J, K, L, M y N barra = **77** μm . **Regiones de corte** Rap (Fig. A, B, C, D, E); Rpab (Fig. F, G, H, I, J, K); Rar (Fig. L, M, N). **Página Posterior**

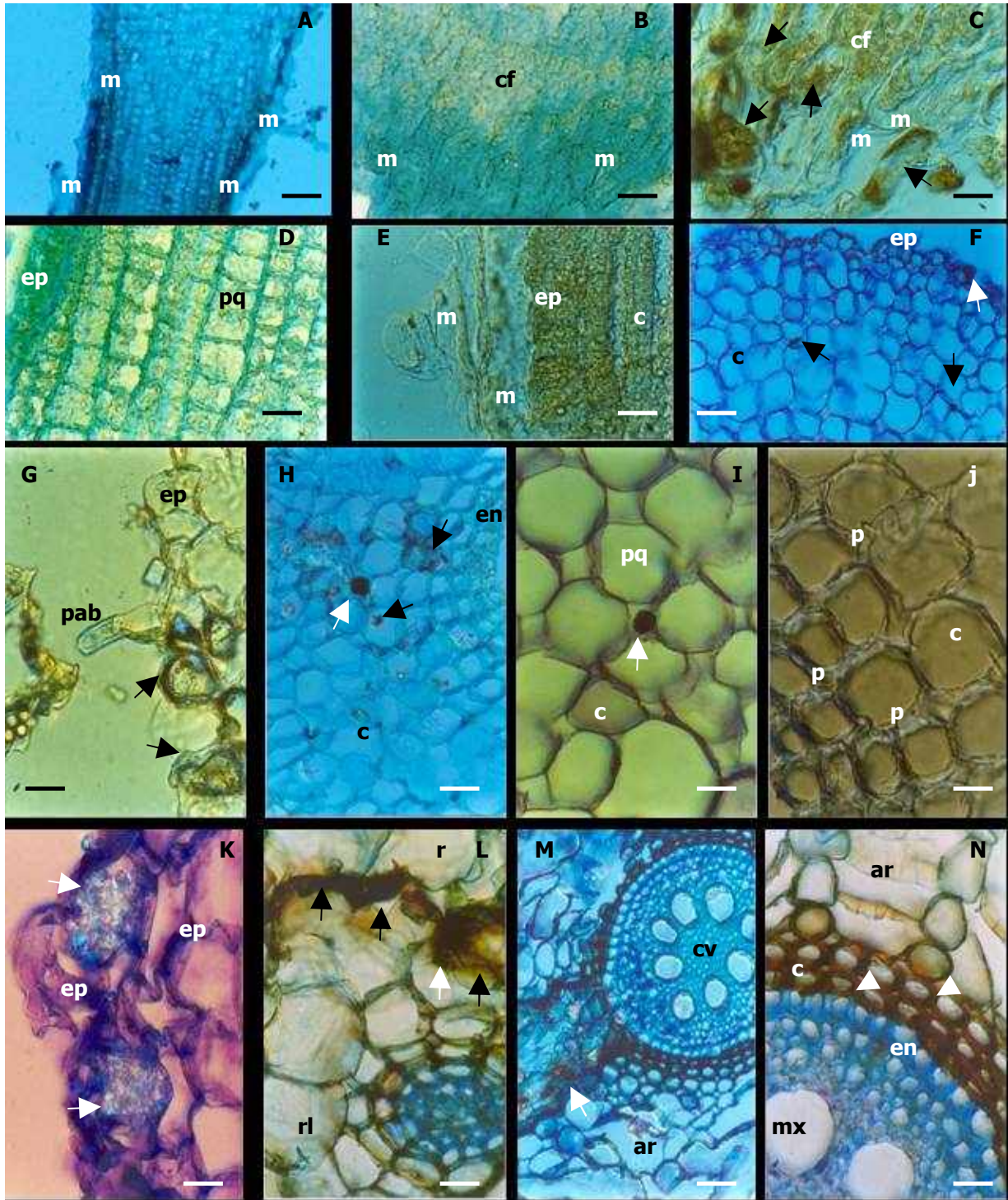


Figura 9. 4. Histoquímica de raíz de *Cyperus laxus* en presencia de hidrocarburos intemperizados.

9.1.3.2. *Paspalum arundinaceum* Poiret

a) Raíces en ausencia de hidrocarburos

La figura 9.5 muestra una serie de fotografías correspondientes a cortes en los tres niveles de la raíz de plantas de *P. arundinaceum* en ausencia de hidrocarburos.

En la región del ápice de raíz de *P. arundinaceum* se presenta una gruesa capa de mucílago, que de manera similar a la encontrada en la otra especie, es más notoria en la parte apical de la raíz y disminuye de manera constante conforme se asciende en el corte, hasta desaparecer en la zona de pelos absorbentes (Fig. 9.5.A).

Esta capa mucilaginosa no solo se encuentra recubriendo a la cofia y la raíz, además, se encuentra presente en forma de una capa intermedia entre la raíz y las células de la caliptra (Fig. 9.5.C).

En la parte lateral del ápice se observa una reacción intensa del mucílago al ser teñida con PAS (Fig. 9.5.B) y AA (Fig. 9.5.G) en comparación con la tenue respuesta mostrada por las secciones tratadas con AC (Fig. 9.5.F) y con la nula respuesta encontrada con la tinción de ClIZn. (foto no mostrada).

Los tejidos de la epidermis y corteza en las zonas del ápice presentan una reacción positiva tenue en las paredes celulares con la tinción de PAS (Fig. 9.5.D), mientras que en las secciones tratadas con AA (Fig. 9.5.H) y AC (Fig. 9.5.F) se observa una mayor intensidad, que refleja una mayor afinidad de los componentes de las paredes por estas tinciones.

Los tejidos vasculares, presentan una reacción similar a la encontrada en las células de la corteza, con una clara respuesta positiva a la tinción de AA en las paredes (Fig. 9.5.E) y citoplasma (Fig. 9.5.I), mientras que con las tinciones de PAS y AC la intensidad de la reacción es menor (fotos no mostradas).

La Rpa revela la presencia de una epidermis biestratificada, que en sus paredes muestra gran afinidad por la tinción de ClIZn, mientras que con las tinciones de PAS, AA y AC la reacción es más tenue (fotos no mostradas).

En el tejido de la corteza (multiestratificado) se observa una reacción positiva en las paredes de las células de tipo poliédrico con la tinción de PAS (Fig. 9.5.L) y con la tinción de AA (foto no mostrada).

En las células del cilindro vascular (poliarco), se observa al igual que en la corteza una reacción positiva con la tinción de PAS (Fig. 9.5.L), que destaca la presencia de ocho elementos de metaxilema, que presentan una estructura similar a una

placa perforada (Fig 9.5.M). En la endodermis se aprecian engrosamientos y elementos birrefringentes asociados a las paredes (Fig. 9.5.J), que presentan una gran afinidad por la tinción de CIIZn.

En la *Rar*, se presentan cambios morfológicos en el tejido de la corteza, en la cual el parénquima poliedrico, observado en las dos regiones anteriores, desaparece y se observan una serie de fibras alargadas, con grandes cavidades, que se conectan entre la epidermis biestratificada y un estrato remanente de células rectangulares de corteza cercanas a la endodermis (Fig. 9.5.K), por consiguiente solo se observa una reacción positiva con las tinciones en las paredes de la epidermis.

En los tejidos vasculares de esta región, se pudo observar que las paredes de la endodermis presentan una serie de engrosamientos con birrefringencia, más evidentes que los observados en la región de pelos absorbentes (Foto no mostrada) y el cilindro vascular presenta de 10 a 12 elementos de metaxilema.

b) Raíces en presencia de hidrocarburos intemperizados

En la Figura 9.6 se presenta la serie de fotografías correspondientes a las tres regiones de la raíz de *P. arundinaceum* en presencia de HTP intemperizados.

En la *Rap*, se puede observar una clara disminución o adelgazamiento en la capa de mucílago que protege a la raíz desde la cofia hasta la zona de pelos absorbentes (Fig. 9.6.A. y Fig. 9.6.B), en comparación con el grosor de las raíces de la planta sin exposición a HTP.

La disminución de la capa mucilaginoso es más evidente en dos puntos en particular. En la parte lateral del ápice, en donde se observa un decremento en el grosor de esta matriz extracelular con las tinciones de AC (Fig. 9.6.H), CIIZn (Fig. 9.6.C), AA (Fig. 9.6.B) y PAS (Foto no mostrada) y el segundo en la capa intermedia de mucílago entre la caliptra y las células epidérmicas. (Fig. 9.6.I).

La cofia presenta una serie de componentes oscuros alojados en las células cercanas al caliptrogeno y en las células de la raíz cercanas al meristemo (Fig. 9.6.A). Así mismo, se observa una coloración pardo oscura en las células de la caliptra que interfiere con la tinción de AA (Fig. 9.6.D) y con la tinción de PAS (foto no mostrada). Esta coloración se observa en las secciones, antes de ser tratadas y después de las tinciones.

Los tejidos epidérmicos y de la corteza también presentan una coloración oscura que va de tenue a intenso en las paredes o en la totalidad de la célula e interfiere con las tinciones de AA (Fig.9.6.B) y PAS (Fig. 9.6.E). En los tejidos jóvenes del

sistema conductor también se puede apreciar la coloración pardo oscura en las células, que interfiere con la tinción de AA y PAS (Fig. 9.6.J).

El oscurecimiento en las células disminuye conforme ascendemos en el corte y con ello también la capacidad de interferir con las tinciones, recobrando la capacidad de reacción de las células de la corteza (Fig. 9.6.F). y de los tejidos vasculares (Foto no mostrada) en la Rap.

En los espacios intercelulares de la corteza, se puede observar de manera clara una serie de depósitos oscuros en forma paralela a las paredes de las células, sin embargo, estos depósitos parecen estar asociados a las paredes de las células e interferir con la tinción de ClIZn (Fig. 9.6.G).

En la Rpa, no se aprecia ninguna diferencia anatómica o del tipo de las manifestadas con anterioridad en los tejidos epidérmicos, de la corteza o del sistema vascular (fotos no mostradas).

La Rar, presenta los mismos cambios morfológicos encontrados en las plantas sin estrés por hidrocarburos, sin que se observe alguna alteración por efecto de los hidrocarburos intemperizados (Foto no mostrada), pero en secciones de esta misma región, que presentan crecimiento de raíces laterales, se pueden apreciar una serie de inclusiones de material oscuro en la zona de crecimiento de la raíz lateral (Fig. 9.6.L), así como la incorporación o adsorción de sustancias que producen una coloración oscura intensa e interfiere con la tinción de AT (Fig. 9.6.K). Así mismo, se encuentran una serie de inclusiones de tipo Inter e intracelular en el cilindro vascular (Fig. 9.6.M) e inclusiones extracelulares en las células de la corteza cercanas al tejido conductor (Fig. 9.6.N).

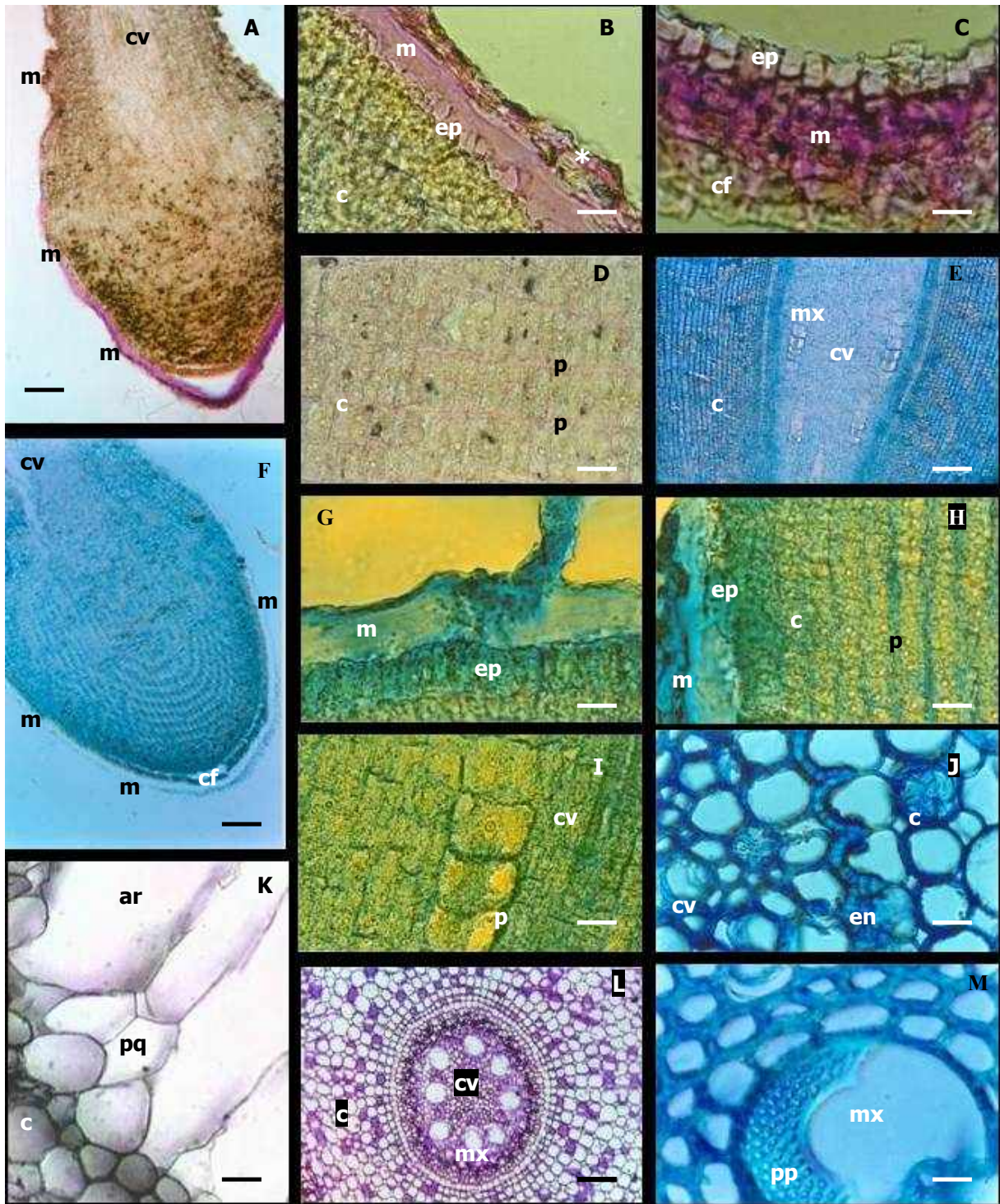


Figura 9. 5. Histoquímica de la raíz de *P. arundinaceum* en ausencia de hidrocarburos intemperizados.

Pie de Figura 9.5. Histoquímica de la raíz de *P. arundinaceum* en ausencia de hidrocarburos. **A)** Corte longitudinal lateral del apice, teñida con PAS. Estrato mucilaginoso que rodea a la raíz y una fracción de cofia. Microscopia Nm.; **B)** Zona lateral del ápice de raíz, tratada con PAS. Capa de mucílago recubriendo a la epidermis y partículas de suelo adheridas al mucílago. Microscopia Nm.; **C)** Zona media del ápice de raíz, teñida con PAS. Estrato de mucílago entre células de la cofia y células de la raíz. Microscopia Nm.; **D)** Corte longitudinal del ápice de raíz, zona de la corteza teñida con PAS. Células rectangulares de parénquima, con reacción positiva tenue en paredes. Microscopia Nm.; **E)** Corte longitudinal medial de ápice de raíz, zona de cilindro vascular, tratada con AA. Reacción positiva intensa en células de la corteza y del cilindro vascular. Microscopia Nm.; **F)** Corte longitudinal lateral de ápice de raíz, teñido con AC. Estrato de mucílago con reacción positiva tenue, reacción positiva intensa en células de epidermis, corteza y cilindro vascular. Microscopia Nm.; **G)** Zona lateral del ápice de raíz tratada con AA. Células de la epidermis y mucílago con reacción positiva intensa. Microscopia Nm.; **H)** Zona lateral del ápice de raíz, tinción de AA. Reacción positiva en capa de mucílago, células de epidermis y paredes de células de la corteza. Microscopia Nm.; **I)** Corte longitudinal de ápice de raíz, zona de cilindro vascular. Reacción positiva en paredes y matriz nuclear de células de la corteza y elementos del cilindro vascular. Microscopia Nm.; **J)** Corte transversal de raíz en la región de pelos absorbentes, zona de cilindro vascular tratada con AT. Engrosamiento de paredes en células de la endodermis. Microscopia Nm.; **K)** Corte transversal en fresco de raíz, región de aerenquima tratada con AT. Células de parenquima de la corteza sosteniendo las paredes que proporcionan el espacio para el aire. Microscopia Cf.; **L)** Corte transversal de raíz en la región de pelos absorbentes, teñida con PAS. Reacción positiva de paredes en las células de la corteza y del cilindro vascular poliarco, con ocho elementos de metaxilema. Microscopia Nm. y **M)** Corte transversal de raíz en la región de pelos absorbentes, zona de cilindro vascular tratada con A. T. Elemento del metaxilema con una placa perforada. Microscopia Nm. **Abreviaturas:** Aerenquima (**ar**); cilindro vascular (**cv**); corteza (**c**); cofia (**cf**); Epidermis (**ep**); endodermis (**en**); metaxilema (**mx**); mucílago (**m**); partícula de suelo (*); pared celular (**p**); pelo absorbente (**pab**), parenquima (**pq**); placa perforada (**pp**); raíz (**r**); raíz lateral (**rl**). Microscopia de contraste diferencial de interferencia "Nomarski" (**Nm**). Microscopia de contraste de fases (**Cf**). **Escalas.** Fig. A y F barra = **654 μm**; Fig. E barra = **404 μm**; Fig. B, C, D, G, I, J, K, L, Y M barra = **267 μm** y Fig. H barra = **202 μm**. **Regiones de corte.** Rap (Fig. A, B, C, D, E, F, G, H, I); Rpab (Fig. J, L, M); Rar (Fig. K). **Página anterior.**

Pie de Figura 9.6. Histoquímica de la raíz de *P. arundinaceum* en presencia de HTP: **A)** corte longitudinal medial de apice de raíz, tratada con AC. Reacción positiva intensa en células de cofia; epidermis y corteza, con intrusión de material negro entre las paredes de las células (flechas). Microscopia Nm.; **B)** Corte longitudinal medial de ápice de raíz, tratada con AA. Estrato de mucílago adelgazado, con reacción positiva intensa a la tinción, coloración pardo oscura (flecha) en células de epidermis, corteza y cofia. Microscopia Nm.; **C)** Corte longitudinal de raíz, zona lateral ápice teñida con ClI Zn. Intrusión de material oscuro (flecha) en células de la corteza y epidermis. Adelgazamiento del estrato mucilaginoso. Microscopia Nm.; **D)** Corte longitudinal medial de ápice de raíz, zona de la cofia tratada con AA. Células de la cofia, con coloración pardo oscura (flechas) y reacción positiva solo en algunas paredes. Microscopia Nm.; **E)** Corte longitudinal medial de ápice de raíz, zona de la corteza teñida con PAS. Células de la corteza con coloración pardo oscuro (flecha), sin reacción a la técnica histoquímica. Microscopia Nm.; **F)** Corte longitudinal medial de ápice de raíz, zona de la corteza teñida con AA. Reacción positiva intensa en paredes y matriz nuclear de células ubicadas en la parte superior del tejido de la corteza. Microscopia Nm.; **G)** Corte longitudinal medial de ápice de raíz tratada con Cl I Zn. Intrusiones de material oscuro (flechas) entre las paredes de células de la corteza. Microscopia Nm.; **H)** Zona lateral del ápice de raíz, tratada con A.C. Reacción positiva tenue en la adelgazada capa de mucílago, reacción positiva intensa en la epidermis y en células de la corteza. Microscopia Nm.; **I)** Corte longitudinal medial de raíz, zona lateral ápice teñida con PAS. Coloración pardo oscura (flecha) en cofia y epidermis, sin reacción a la tinción. Estrato intermedio de mucílago adelgazado, reacción positiva tenue. Microscopia Nm.; **J)** Corte longitudinal medial de ápice de raíz, zona de la corteza y cilindro vascular, teñida con PAS. Presencia de color pardo oscuro (flecha) en elementos del cilindro vascular (xilema). Microscopia Nm.; **K)** Corte longitudinal raíz lateral, en zona de aerenquima tratado con AT. Paredes de las células epidermicas de la raíz lateral con adsorción de materia pardo oscuro (flecha). Microscopia Nm.; **L)** Corte transversal de raíz en zona de aerenquima con crecimiento de raíces laterales, tratada con A.T. Intrusiones de material oscuro (flecha) dentro del cilindro vascular, en área de surgimiento de la raíz lateral. Microscopia Nm.; **M)** Corte transversal de raíz en zona de aerenquima con crecimiento de raíces laterales, tratada con AT. Depositos de material oscuro extra e intracelular (flecha) dentro del cilindro vascular. Microscopia Nm. y **N)** Corte transversal de raíz en zona aerenquima con crecimiento de raíces laterales, tratada con AT. Depositos de material oscuro intercelulares (flecha) en células parenquimáticas de la corteza. Microscopia Nm. **Abreviaturas:** Aerenquima (**ar**); cilindro vascular (**cv**); corteza (**c**); cofia (**cf**); Epidermis (**ep**); endodermis (**en**); metaxilema (**mx**); mucílago (**m**); partícula de suelo (*); pared celular (**p**); pelo absorbente (**pab**), parenquima (**pq**); placa perforada (**pp**); raíz (**r**); raíz lateral (**rl**); xilema (**x**). Microscopia de contraste diferencial de interferencia "Nomarski" (**Nm**). Microscopia de contraste de fases (**Cf**). **Escalas.** Fig. A barra = **472 μm**; Fig. B barra = **453 μm**; Fig. G y H barra = **198 μm**; Fig. D, M y N barra = **99 μm**; Fig. C, E y F barra = **94 μm**; Fig. I y J barra = **83 μm** y Fig. K y L barra = **71 μm**. **Regiones de corte.** Rap (Fig. A, B, C, D, E, F, G, H, I, J) Rar (Fig. K, L, M) **Página posterior.**

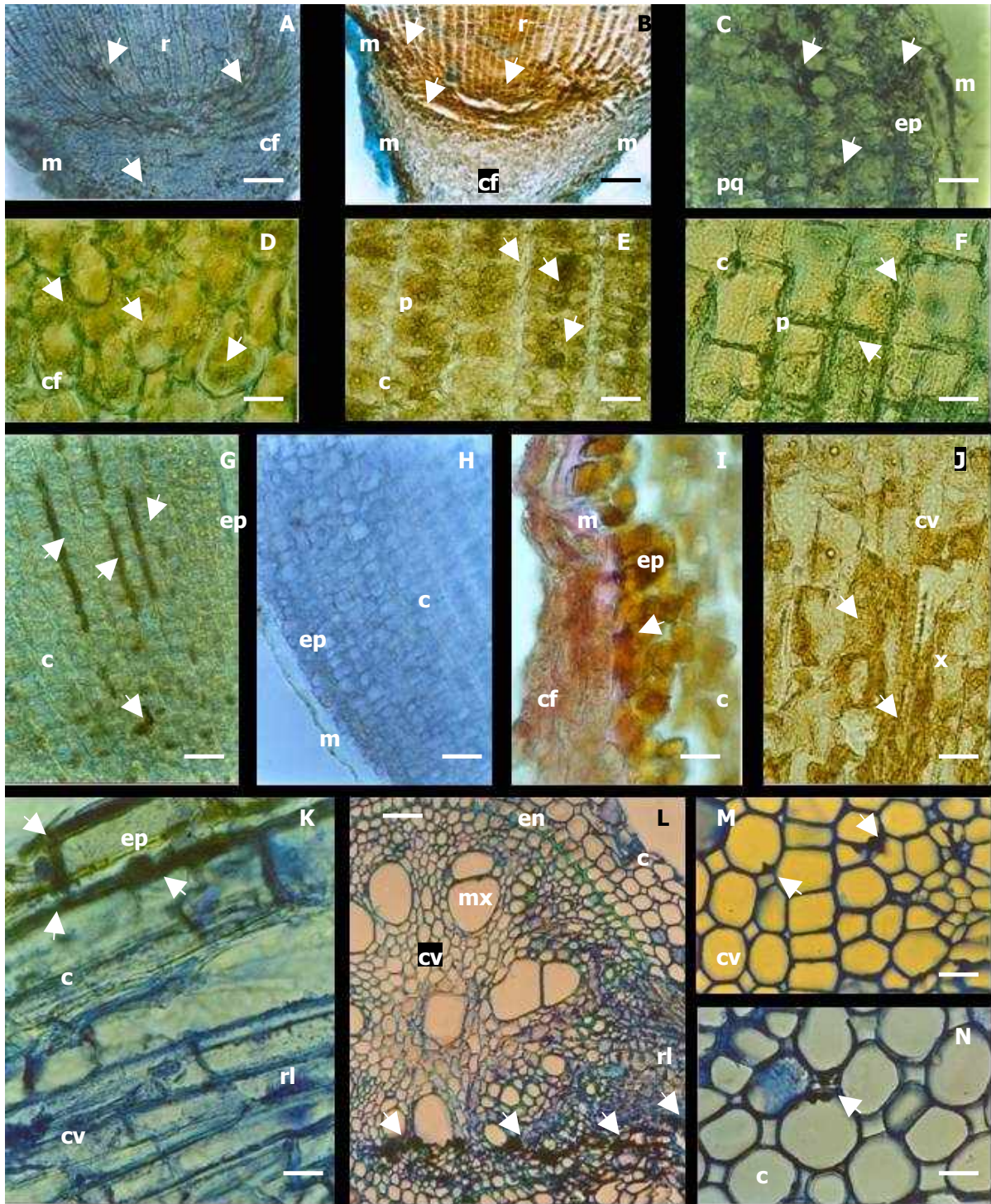


Figura 9. 6. Histoquímica de la raíz de *P. arundinaceum* en presencia de hidrocarburos intemperizados.

9.2 Concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo.

Los resultados del experimento de degradación de los contaminantes orgánicos se presentan de la siguiente manera: (1) Comparando la eficiencia entre los tratamientos, sin considerar la profundidad y evaluando a cada tratamiento a lo largo del tiempo y (2) Comparando la eficiencia entre los tratamientos, considerando los valores de las diferentes profundidades de la unidad experimental por separado y evaluando sus cambios a lo largo del tiempo.

9.2.1 Concentración de HTP en cada tratamiento, sin considerar el efecto de la profundidad.

El resumen de los promedios mensuales de hidrocarburos de los cuatro tratamientos y el de los resultados de las pruebas estadísticas se muestran en la tabla 9.5. del anexo de tablas.

Consideraciones estadísticas.

El número de muestras para la determinación de HTP por cada mes fue de nueve para cada uno de los tratamientos, sumando 54 muestras por cada tratamiento durante los seis meses de duración del experimento.

Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de normalidad a través de las pruebas de Simetría, Kurtosis y D`Agostino  mnibus. Para determinar la igualdad de varianzas, se aplico la prueba Modificada de Levene. Para realizar comparaciones entre los datos mensuales de cada tratamiento, entre los tratamientos y entre las profundidades se aplicaron pruebas de ANDEVA y de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ($\alpha=0.05$).

Determinación de hidrocarburos

En la figura 9.7. se muestran las graficas de promedios mensuales de la concentración de HTP correspondientes a los cuatro tratamientos.

La grafica de la concentración promedio de HTP del tratamiento testigo (Fig. 9.7.A), muestra que en los dos primeros meses se incrementa la concentración de hidrocarburos con respecto al valor inicial, con concentraciones promedio de $80,077.78 \pm 10,215.77$ y $95,122.22 \pm 18,985.56$ ppm, que corresponden a un incremento de 2.31 y 21.53 % respectivamente.

En el segundo bimestre, se observa una disminución en los valores promedio de hidrocarburos con $75,420.25 \pm 27,158.90$ y $73,442.22 \pm 3,748.23$ ppm, concentraciones que muestran un decremento de 3.63 y 6.16 % con respecto a la concentración inicial.

En el quinto mes, se presenta un incremento en los HTP, con $78,025.22 \pm 6,562.29$ ppm y en el último mes se registran valores de degradación hasta alcanzar un valor de 12.98 % por debajo de la concentración inicial, con un promedio final de $68,497 \pm 14,502.31$ ppm. Sin embargo, los valores promedio determinados en el periodo de estudio de seis meses de degradación, no presentan diferencias estadísticamente significativas con las pruebas de ANDEVA ($\alpha=0.05$).

En el caso del tratamiento con la especie *P. arundinaceum* (Fig. 9.7.B.), se observa un incremento en las concentraciones de HTP con un valor máximo de $97,433.33 \pm 11,448.83$ ppm, que equivale a un aumento de 24.48 % durante el primer mes. A partir del segundo mes se observa una tendencia de disminución de los promedios de hidrocarburos, que presenta valores por debajo de la concentración inicial en el cuarto mes con $74,056.33 \pm 9,859.74$ ppm, que refleja una disminución de un 5.37 %. Sin embargo, solo se presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto a la concentración inicial en el quinto y sexto mes ($P = 0.000000$). Con una concentración final de hidrocarburos de $55,763.56 \pm 3,462.66$ ppm, que indica una disminución de 28.75 %.

En la figura 9.7.C, se observa el comportamiento de las concentraciones de HTP para el tratamiento de suelo con la especie *C. laxus*, en el cual se destaca el incremento durante los primeros dos meses, con un valor máximo en el segundo mes de $88,600 \pm 4,280.14$ ppm, equivalente a un 13.2 % por arriba del promedio inicial. El descenso en las concentraciones inicia en el tercer mes, con un promedio de $63,880.88 \pm 6,498$ ppm, que implica un decremento de 18.38 %, presentando diferencias significativas en las pruebas estadísticas de Kruskal-Wallis, con respecto a la concentración inicial ($P = 0.000001$).

En el cuarto mes, se aprecia un ligero aumento (con respecto al mes anterior) en los valores promedio, con $68,483.33 \pm 8,853.88$ ppm, que disminuye en el quinto y sexto mes, hasta alcanzar una concentración final de $50,890.33 \pm 4,927.88$ ppm, que corresponde a una disminución de HTP de 34.98 %, con respecto a la concentración inicial.

El comportamiento de la concentración de hidrocarburos en el tratamiento con las dos especies (Fig. 9.7.D), nos muestra, que de manera similar a los anteriores tratamientos, se aprecia un incremento en la concentración de HTP durante el primer mes con un promedio de $94,285.71 \pm 21,063.67$ ppm. En los dos meses siguientes, se aprecia una disminución en los valores de hidrocarburos con un promedio en el tercer mes de $82,751.25 \pm 12,289.82$ ppm, que se encuentra un 5.73 % por arriba del valor de inicio. El cuarto mes revela un incremento, con una concentración promedio de $85,656.83 \pm 14,876.27$ ppm.

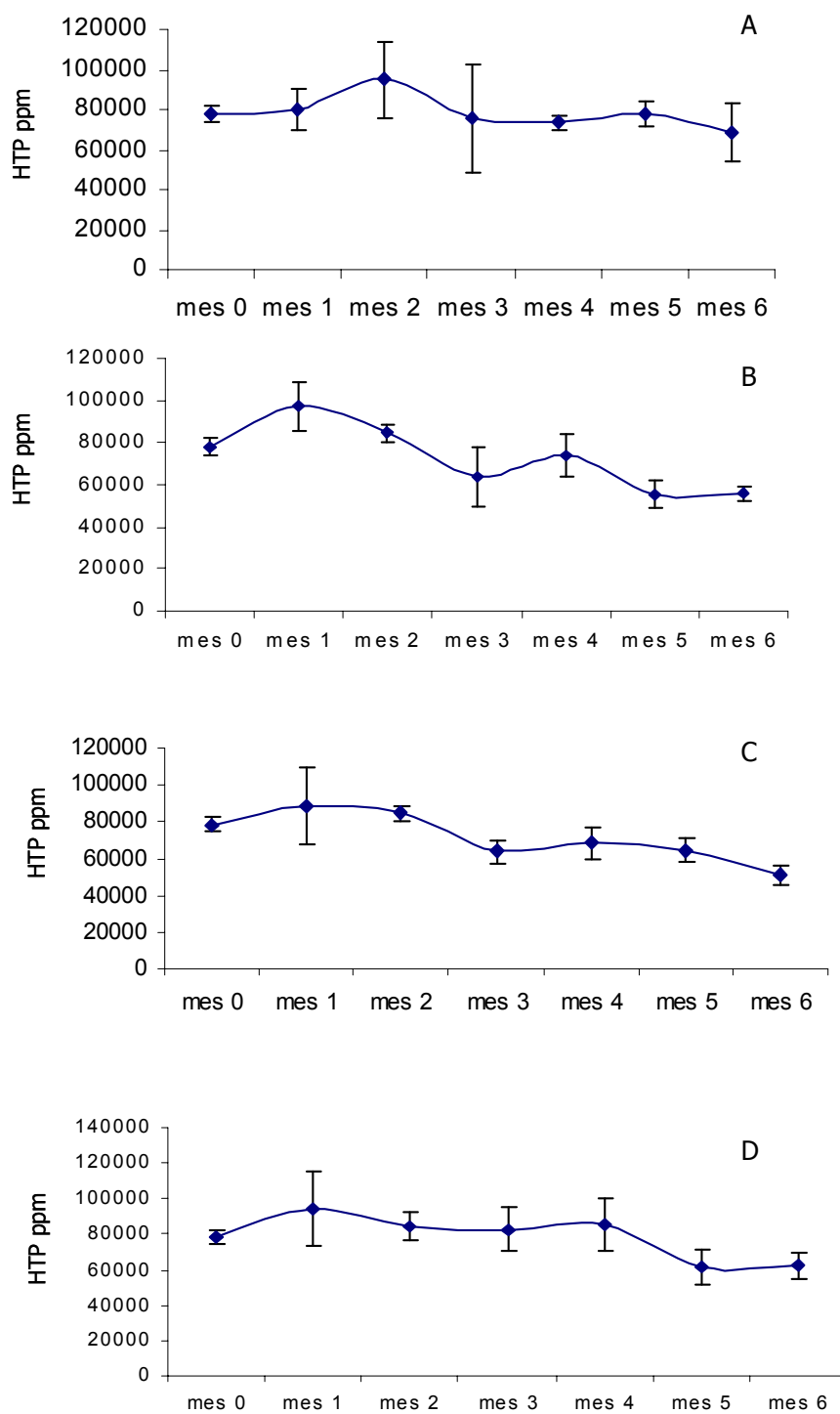


Figura 9. 7. Degradación de HTP en diferentes tratamientos a lo largo de seis meses: A) Tratamiento sin plantas (testigo); B) tratamiento con la especie *P. arundinaceum*; C) tratamiento con la especie *C. laxus* y D) tratamiento con ambas especies de plantas. Las barras indican una desviación estándar.

En el último bimestre del experimento, se presentan valores de HTP que presentan diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.00002$) con respecto a la concentración de inicio, con un promedio final de $62,425.89 \pm 7,379.28$ ppm, que describe una disminución total hidrocarburos de 20.24 %.

Los datos correspondientes a cada uno de los meses por separado, fueron sometidos a pruebas estadísticas de ANDEVA y Tukey-Kramer, para comparar los tratamientos entre sí, mostrando que en los dos últimos meses de degradación, se refleja una clara diferencia ($P = 0.000013$) entre las unidades experimentales con plantas en comparación con las que carecen de ellas.

9.2.2. Concentración de hidrocarburos en cada tratamiento, considerando la profundidad

El resumen de los promedios mensuales de hidrocarburos de los cuatro tratamientos (por cada una de las tres profundidades evaluadas), así como los resultados de las pruebas estadísticas se muestran en la tabla 9.6. del anexo de tablas.

Consideraciones estadísticas.

El número de determinaciones para HTP en cada profundidad fue de tres, sumando nueve muestras para cada uno de los tratamientos al mes y un total de 54 muestras por cada tratamiento durante los seis meses de duración del experimento.

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de normalidad a través de las pruebas de Simetría, Kurtosis y D`Agostino Ómnibus. Para determinar la igualdad de varianzas, se aplicó la prueba Modificada de Levene. Para realizar las comparaciones estadísticas entre los datos (comparación entre meses, entre tratamientos y entre las profundidades) se aplicaron pruebas de ANDEVA y de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer en muestras paramétricas y pruebas de Kruskal-Wallis a los datos no paramétrico ($\alpha=0.05$).

Determinación de hidrocarburos

En la figura 9.8.A se muestran los promedios de HTP en muestras de suelo correspondientes a la capa superficial, en los cuales se observa que todos los tratamientos presentan un incremento en sus concentraciones durante el primer mes, siendo mayor en los tratamientos con plantas, donde *P. arundinaceum* presenta una concentración de $107,433.33 \pm 34,968.75$ ppm, que corresponde a un incremento de 37.27 % con respecto al valor inicial de $78,266.67 \pm 4,061.2$ ppm, en *C. laxus* $92,700 \pm 28,019.28$ que equivale a un aumento de 18.44 % y el

tratamiento con las dos especies con $101,066.67 \pm 35,209.71$ ppm que describe un aumento del 29.13 %.

Posteriormente, las concentraciones descienden de manera estadísticamente significativa en el tercer mes para los tratamientos testigo y *C. laxus* ($P=0.000000$ y $P = 0.011598$) con valores de $58,178.67 \pm 4,922.7$ y $73,408.5 \pm 16,974.37$ ppm respectivamente. Estas concentraciones representan un descenso de 25.65 y 6.26 %, con respecto a valor de inicio. Los tratamientos con *P. arundinaceum* y ambas especies, presentan sus degradaciones más significativas ($P = 0.000000$ y $P=0.000000$) hasta los cinco meses de actividad, con valores de $49,575 \pm 2,946.83$ y $55,143.33 \pm 5,003.42$ ppm.

En el sexto mes, todos los tratamientos presentan diferencias significativas con respecto a las concentración inicial, con valores de $57,474.33 \pm 2,333.3$ ppm con *P. arundinaceum*, $49,450 \pm 3,653.53$ con *C. laxus*, $69,673.33 \pm 5,804$ en el tratamiento con ambas especies y en el testigo $51,093.33 \pm 2,024.36$ ppm. Éstos valores representan degradaciones finales de 26.57, 36.82, 10.98 y 34.72 % en sus respectivos tratamientos.

En las muestras de suelo tomadas a cinco cm. de profundidad (Fig. 9.8.B) se observa un comportamiento similar a las muestras superficiales, con un incremento en los primeros meses, siendo mayor el en el primer mes y en los tratamientos con plantas, con valores de $96,933.33 \pm 13,342.54$ ppm en *P. arundinaceum*, $95,600 \pm 18,374.71$ en *C. laxus*, $90,633.33 \pm 10,276$ en ambas especies y en Testigo $85,966.67 \pm 11,250.93$ ppm, valores que representan incrementos de 23.85, 22.15, 15.8 y 9.84 %, respectivamente. En el segundo mes las concentraciones de HTP son muy similares a las iniciales y entre los diferentes tratamientos.

Las primeras disminuciones en las concentración de hidrocarburos en las muestras de cinco cm. de profundidad en los tratamientos Testigo y *C. laxus*, se presentan en el tercer mes de actividad, con promedios de $64,251 \pm 10,017.31$ y $60,616 \pm 800.48$ ppm. El valor registrado por el grupo testigo corresponde a la concentración más baja de todo el periodo experimental en está profundidad. Por otro lado, el tratamiento con la especie *P. arundinaceum* y el tratamiento con las dos especies, se presentaron incrementos en los promedios de hidrocarburos en los meses tres y cuatro.

En el ultimo bimestre del experimento, se observa una tendencia de disminución en los promedios de HTP de los tratamientos testigo y *C. laxus*, con concentraciones de finales de $70,523.33 \pm 1,797.45$ y $55,607.67 \pm 5,445.67$ ppm, valores que representan una disminución de 9.89 y 28.95 %, con respecto a la concentración de hidrocarburos iniciales. Sin embargo, solo los promedios de HTP en el tratamiento con *C. laxus* reflejan diferencias estadísticas ($P = 0.003171$) con respecto a la concentración inicial

En el caso de la gramínea y el tratamiento conjunto, se presenta una disminución estadísticamente significativa en las pruebas de ANDEVA y Tukey-Kramer ($P=0.007272$ y $P = 0.023586$), durante los dos últimos meses en comparación con las concentraciones iniciales, con promedios de $55,719.33 \pm 5,672.92$ y $59,824.33 \pm 4,202.37$ ppm, que representan porcentajes de degradación de los tratamientos de 28.81 y 23.56 % respectivamente.

Las pruebas estadísticas de comparación entre tratamientos por cada mes (ANDEVA, Tukey-Kramer o pruebas de Kruskal-Wallis), nos indican que las concentraciones de HTP en los suelos con plantas presentan diferencias significativas ($P = 0.0089874$) con respecto a las unidades sin plantas desde el tercer mes de actividad.

La grafica de los promedios mensuales de hidrocarburos, en muestras de diez cm. de profundidad (Fig. 9.8.C) presenta comportamientos muy diferentes entre el suelo control y los tratamientos con plantas.

El grupo testigo muestra el mayor incremento en la concentración de hidrocarburos de todas las muestras en el segundo y tercer mes del experimento, con $120,133.33 \pm 4,587.18$ y $118,036.5 \pm 3,964.75$ ppm, que representan un aumento de 53.5 y 50.8 %, en cada mes con respecto a la concentración inicial.

Las determinaciones de HTP correspondientes a los meses cuatro, cinco y seis de las muestras de suelo sin plantas, presentan una disminución en los valores promedio, aunque siempre se mantiene por encima de las concentraciones iniciales, alcanzando valores finales de $83,874.33 \pm 4,330.73$ ppm, que implican un aumento de 7.16 % de hidrocarburos en las muestras de suelo.

La comparación estadística entre los promedios mensuales del tratamiento sin plantas revelo diferencias significativas ($P = 0.000000$) entre los meses tres, cuatro y cinco con respecto a los valores de inicio.

El tratamiento con la especie *C. laxus*, presentan una disminución de hidrocarburos muy clara desde el tercer mes, con un promedio de $60,794 \pm 1,000.05$ ppm, en los siguientes dos meses se aprecian valores muy cercanos entre sí, sin diferencias significativas con el promedio que les precede. En el sexto mes se presenta la concentración de hidrocarburos más baja de este tratamiento con $47,613.33 \pm 1,237.9$ ppm, que representa una disminución de 39.17 % del total de HTP iniciales. Las muestras de *C. laxus* presentaron diferencias significativas ($P=0.000000$) con respecto a la concentración inicial desde el segundo mes conformando tres grupos, el primero determinado por los valores del segundo mes; el segundo por los meses tres, cuatro y cinco y el ultimo grupo lo establecen los valores el sexto mes.

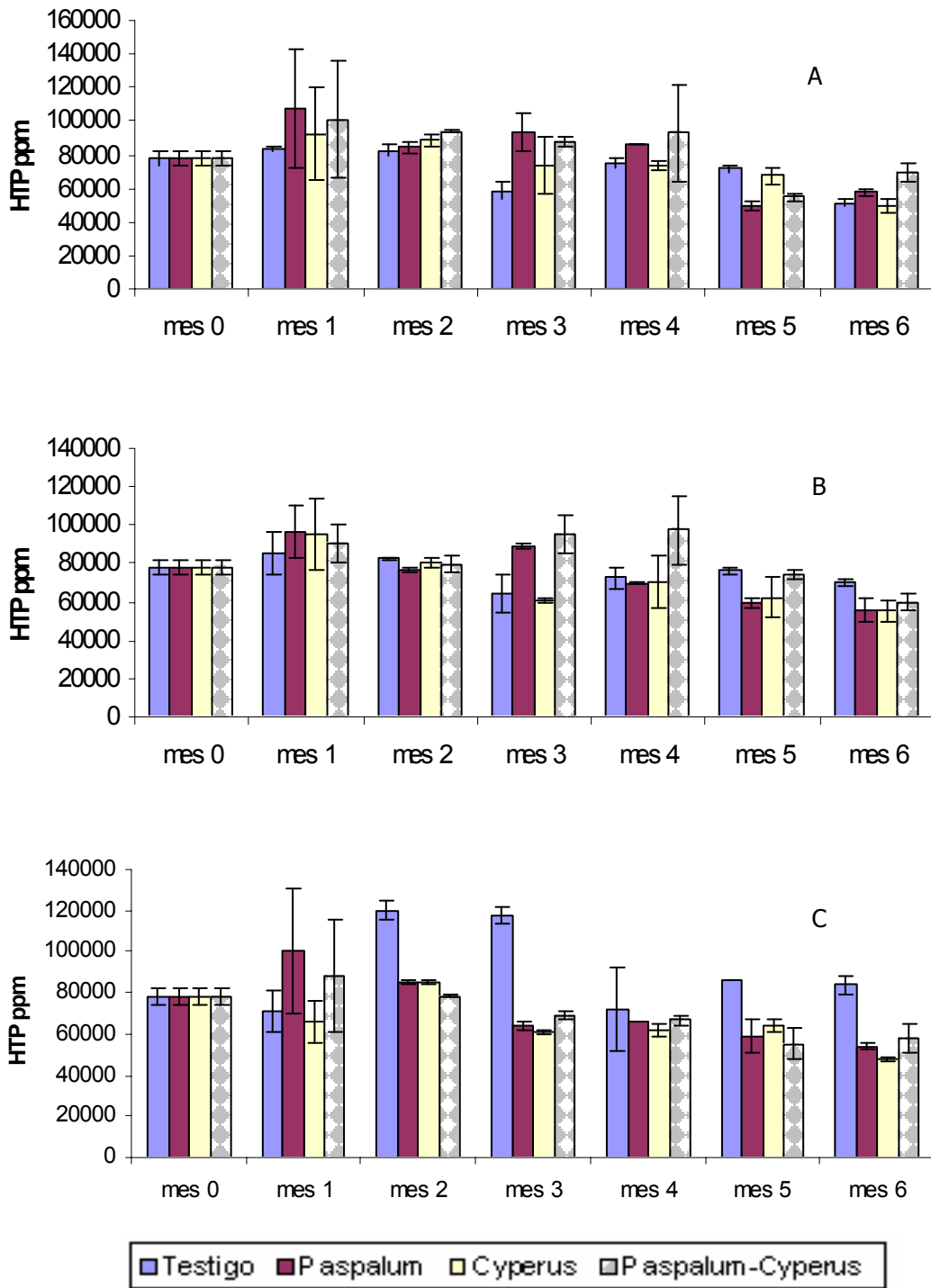


Figura 9. 8. Degradación de HTP a diferentes profundidades en cuatro tratamientos, a lo largo de seis meses: A) Muestras superficiales; B) Muestras a cinco cm. y C) Muestras a diez cm. Las barras indican una desviación estándar.

Los tratamientos con plantas de la especie *P. arundinaceum* y el tratamiento conjunto de especies, presentan valores de disminución de hidrocarburos significativos ($P = 0.013146$ y $P = 0.000000$, respectivamente) hasta el último bimestre del periodo experimental, con concentraciones finales de $54,097 \pm 1,332.12$ y $57,780 \pm 6,719.53$ ppm, en cada tratamiento, que establecen una disminución final de 30.88 y 26.18 % respectivamente.

El análisis de comparación estadístico, entre cada uno de los tratamientos por cada mes, muestra que los promedios de HTP de los tratamientos con plantas, a diez cm. de profundidad tienen diferencias significativas ($P=0.00000$) con respecto al suelo control del segundo al sexto mes de actividad.

En un análisis comparativo entre las concentraciones de HTP de muestras de diferentes profundidades por cada uno de los meses de cada uno de los tratamientos, revelo que el tratamiento testigo no presenta diferencias entre las muestras correspondientes a las tres profundidades en el primer mes, pero en el segundo y tercer mes, se observan diferencias estadísticamente significativas entre las muestras de diez cm. de profundidad y las muestras de las otras dos profundidades ($P = 0.000013$ y $P=0.000596$, respectivamente). En el cuarto mes no hay diferencias. Los meses cinco y seis, presentan diferencias significativas ($P = 0.000131$ y $P = 0.000030$) entre las muestras de las tres profundidades, conformando cada una de ellas un grupo estadísticamente diferente.

En las muestras correspondientes al primer mes, el tratamiento de suelo con la especie *P. arundinaceum*, no presento diferencias estadísticas entre las muestras de las tres profundidades. En el segundo mes, las muestras de cinco cm. de profundidad, presenta diferencias significativas con respecto a las muestras superficiales y las de diez cm. ($P = 0.007945$). En el tercer mes los valores correspondientes a la profundidad de diez cm., presentan diferencias estadísticas ($P = 0.000003$) con las concentraciones de las otras dos profundidades, en el cuarto mes, los datos de las tres profundidades son diferentes entre sí ($P = 0.000042$). En el último bimestre no se aprecian diferencias estadísticas entre las muestras de las tres profundidades.

En el tratamiento con la especie *C. laxus*, no se aprecian diferencias significativas entre las profundidades durante el primer mes. En el segundo mes, las concentraciones de hidrocarburos de las muestras superficiales presentan diferencias significativas con las de cinco cm. con una probabilidad de $P = 0.030203$. En el tercer mes, los valores de las muestras superficiales, presentan diferencias estadísticas con respecto a las otras dos profundidades ($P = 0.013908$). En el mes cuatro, todas las profundidades presentan diferencias estadísticas entre sí ($P=0.000149$). En el quinto mes, no existen diferencias entre ninguna

concentración. El último mes, se presentan diferencias entre las muestras de cinco cm. y las de diez ($P = 0.032930$).

El tratamiento con las dos especies de plantas presenta diferencias estadísticas entre las muestras de cinco cm. y las de las muestras superficiales y de diez cm. ($P=0.018961$) durante el primer mes. En el segundo mes, las muestras superficiales presentan diferencias significativas con las otras dos profundidades ($P= 0.000000$). En el tercero y cuarto mes, las muestras de diez cm. de profundidad presentan diferencias estadísticas con respecto a las muestras de las otras profundidades ($P = 0.001894$ y $P = 0.014400$, respectivamente). En el quinto mes, las muestras de cinco cm. de profundidad presentan diferencias estadísticas ($P = 0.003450$), con las otras dos profundidades. El sexto mes presenta diferencias significativas entre las muestras superficiales y las de las otras profundidades ($P=0.046663$).

9.3. Determinación del tamaño de partícula considerando la profundidad.

El resumen de los promedios mensuales y los resultados de los análisis estadísticos correspondientes a las cantidades de gravas, arenas, limos gruesos y arcillas y limos finos de cada uno de los cuatro tratamientos (por cada una de las tres profundidades evaluadas), se muestran en las tablas 9.7, 9.8, 9.9 y 9.10 del anexo de tablas.

Los resultados de la determinación del tamaño de partícula se presentan en el siguiente orden: 1) distribución de las gravas, 2) distribución de las arenas, 3) distribución de los limos gruesos, y 4) distribución de las arcillas y limos finos.

El número de muestras para la determinación de cada uno de los cuatro tamaños de partícula (gravas, arenas, limos gruesos y arcillas) fue de tres, con un total de nueve para cada uno de los cuatro tratamientos (*P. arundinaceum*, *C. laxus*, ambas especies y suelo sin cobertura vegetal) por cada mes, sumando 54 muestras por cada tratamiento durante los seis meses de duración del experimento.

Los datos obtenidos fueron mostrados de dos maneras, porcentajes para las graficas y cantidad en gramos, para ser sometidos a análisis de normalidad a través de las pruebas de Simetría, Kurtosis y D`Agostino Ómnibus. Para determinar la igualdad de varianzas, se aplico la prueba Modificada de Levene. Para realizar comparaciones entre los datos mensuales de cada tratamiento, entre los tratamientos y entre las profundidades se aplicaron pruebas de ANDEVA y de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer a los datos paramétricos y pruebas de Kruskal-Wallis a los datos no paramétricos, todas ellas con un $\alpha=0.05$.

9.3.1 Gravas

En la figura 9.9 se muestra la distribución de gravas en los diferentes tratamientos en las tres profundidades evaluadas.

En la grafica de las muestras superficiales (Fig. 9.9.A), se observa un ligero incremento en la cantidad de gravas durante el primer mes en todos los tratamientos, con un valor promedio de 77.5 % para el tratamiento con *P. arundinaceum*, 70 % para *C. laxus*, 79 % para el tratamiento conjunto y 75.5 % para el grupo testigo, en comparación con el porcentaje inicial de gravas en el suelo modelo (68 %). Posteriormente, se presenta un descenso muy pronunciado en la curva de todos los tratamientos durante el segundo mes, con la mayor disminución de valores en el tratamiento con *P. arundinaceum*, con un promedio de 39.5 %, seguido de *C. laxus* con 40.5 %, las dos especies con 43 % y el suelo control con 50 %. Sin embargo solo las muestras del tratamiento con *C. laxus* presentan diferencias estadísticamente significativas ($P=0.000035$) con respecto al porcentaje inicial.

En el tercer mes, se presenta un comportamiento diferente en los tratamientos, las muestras de suelo con *C. laxus* y del tratamiento conjunto presentan valores muy similares a los del mes anterior con 40 y 45 % de gravas, respectivamente, mientras que los tratamientos con *P. arundinaceum* y el testigo, presentan comportamientos contrarios entre sí. El primero de ellos, registra un aumento en las gravas con 56.5 % y el segundo un decremento con 31 %, pero ningún valor presenta diferencias estadísticas con respecto al valor inicial.

A partir del cuarto mes de actividad, se presenta una tendencia a mantener los porcentajes sin gran variación en los meses restantes del experimento en los diferentes tratamientos, con un valor final en el sexto mes de 30 % de gravas en *P. arundinaceum*, 42.37 % en *C. laxus*, 32.4 % en ambas especies y 35.9 % en el tratamiento testigo. Este patrón, se encuentra claramente representado en la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer ($\alpha=0.05$), la cual describe la formación de dos grupos estadísticamente diferentes, en los tratamientos con plantas: el primero conformado por los valores correspondientes al primer mes y el segundo grupo por los valores de los últimos tres meses. El tratamiento testigo no presenta diferencias estadísticas con ninguno de los meses, debido a la gran variabilidad intrapoblacional del tercer mes.

Al someter los valores correspondientes a cada mes por separado, a una comparación estadística (ANDEVA y Tukey-Kramer) entre tratamientos, se observa que no hay diferencias entre los tratamientos, durante cinco meses. En el sexto mes el tratamiento con *P. arundinaceum* presenta diferencias con respecto al tratamiento con *C. laxus* ($P = 0.044051$).

En muestras de cinco cm. de profundidad (Fig. 9.9.B), se observa un incremento en los porcentajes de gravas durante el primer mes en todos los tratamientos, con 78 % en el tratamiento con la especie *P. arundinaceum*, 70 % en *C. laxus*, 72.5 % en el tratamiento con las dos especies y 73.5 % en el testigo. El segundo mes presenta un decremento muy importante en todos los tratamientos, con una mayor reducción en el caso de *C. laxus* con un valor de 29.5 %, seguido del tratamiento con *P. arundinaceum* con 35.5 %, el tratamiento con ambas especies de plantas 43 % y el tratamiento testigo con 50 %. Los valores anteriores, que corresponden a los tratamientos con plantas, presentan diferencias significativas con respecto al porcentaje inicial de gravas ($P = 0.010920$, $P = 0.000035$ y $P = 0.015962$, respectivamente).

En el tercer mes, se presenta un incremento en las cantidades de gravas presentes en los tratamientos con plantas, con 55 % para el tratamiento conjunto, 54 % en *P. arundinaceum* y 45.5 % en *C. laxus*. El tratamiento testigo mantuvo el mismo porcentaje del mes anterior.

Las muestras de suelo correspondientes al cuarto mes, presentan una disminución en los porcentajes de gravas, con un valor de 40.2 % en el tratamiento con la especie *P. arundinaceum*, un 36 % en *C. laxus*, 34.95 % en el tratamiento conjunto y 35.5 % en el tratamiento testigo.

En el último bimestre, la tendencia de disminución en las cantidades de gravas se hace más evidente en las muestras de tratamientos con plantas, con valores finales de 17.7 % en el caso de *C. laxus*, 27.5 % en el tratamiento con las dos especies y 34.1 % en *P. arundinaceum*, mientras que el tratamiento testigo disminuyó su cantidad de gravas hasta un promedio de 37.15 %.

La comparación estadística entre los resultados de cada mes nos muestra diferencias significativas entre las muestras de suelo correspondientes a los últimos meses y las muestras de suelo del comienzo del experimento, en todos los tratamientos, con probabilidades de $P = 0.000729$ en el caso de *P. arundinaceum*, $P = 0.000515$ en *C. laxus*, $P = 0.000012$ en tratamiento conjunto y $P = 0.049318$ en el tratamiento testigo.

En el análisis estadístico comparativo entre tratamientos por cada mes, se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas entre todos los tratamientos durante los primeros cuatro meses de actividad. En el quinto mes, el tratamiento con la especie *C. laxus* presenta diferencias significativas con respecto al tratamiento testigo ($P = 0.032439$). En el sexto mes, se presentan diferencias estadísticamente válidas entre los tratamientos con *C. laxus* y ambas especies, con respecto al grupo testigo. El tratamiento con *P. arundinaceum* solo mostró diferencias con el tratamiento con *C. laxus* en el último mes del experimento ($P=0.004824$).

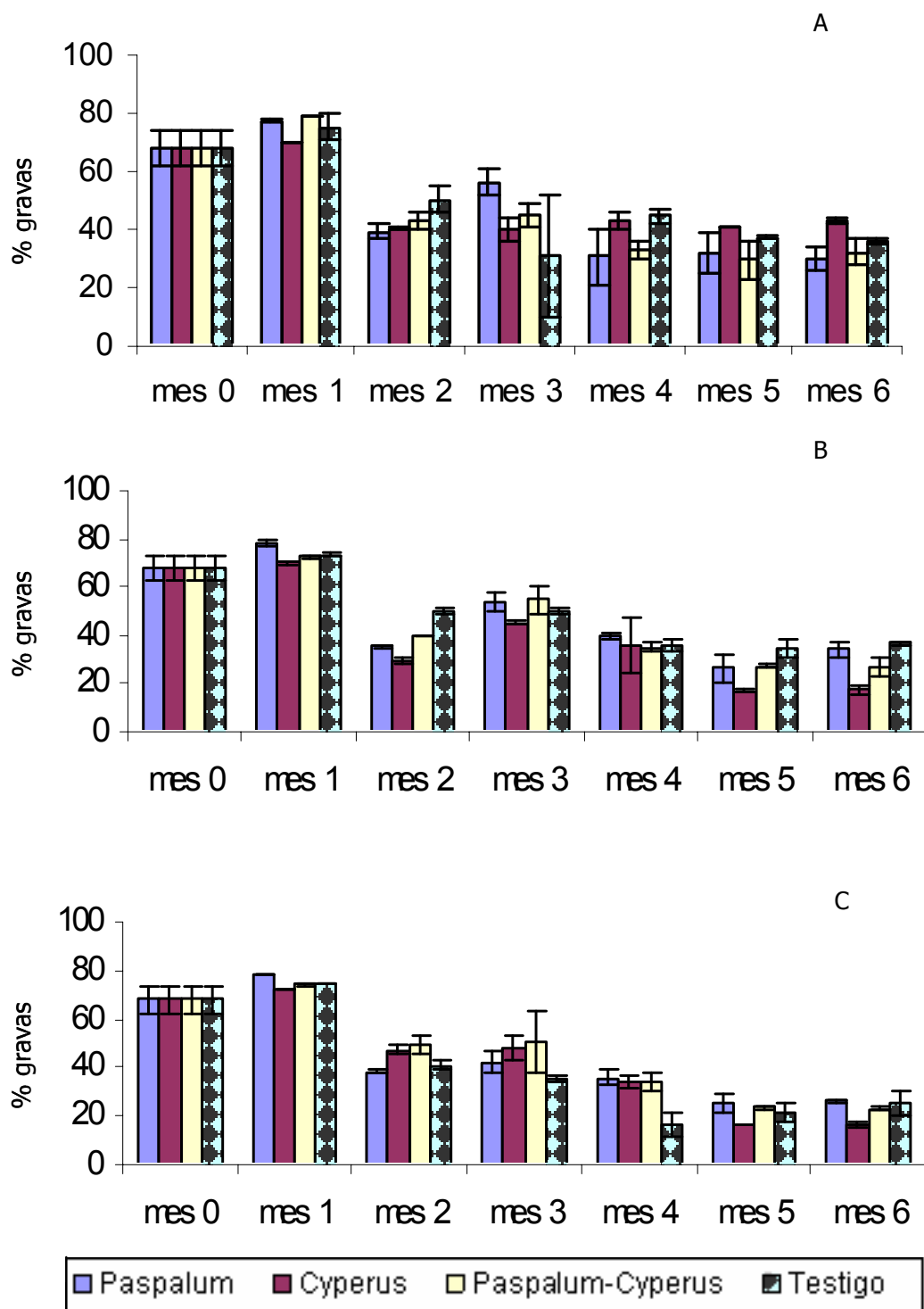


Figura 9. 9. Porcentaje de gravas en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras superficiales; B) muestras de cinco cm. de profundidad y C) muestras de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.

En las muestras obtenidas a diez cm. de profundidad (Fig. 9.9.C), el porcentaje de gravas presenta un comportamiento muy similar al de las dos profundidades anteriores, con un pequeño aumento en las cantidades de gravas después de un mes de actividad, con valores de 78 % en el caso de *P. arundinaceum*, 72.5 % en *C. laxus*, 74.5% en el tratamiento con las dos plantas y 75 % en el grupo testigo.

En el segundo mes, también se reporta una disminución en los porcentajes de gravas para todos los tratamientos con valores de 38.5 % para el tratamiento con *P. arundinaceum*, 41 % en el grupo testigo, 47 % el tratamiento con *C. laxus* y 49.5 % en el tratamiento con las dos especies. Los promedios correspondientes a los tratamientos con *P. arundinaceum*, *C. laxus* y el grupo testigo presentan diferencias significativas con respecto a la concentración inicial de gravas ($P=0.000014$, $P = 0.001021$ y $P=0.000062$, respectivamente).

En el tercer mes, se presentan incrementos de gravas en los tratamiento con plantas, con un 51 % en el tratamiento conjunto de especies, 48.5 % en *C. laxus* y 42 % el tratamiento con *P. arundinaceum*. El grupo testigo se comporta de manera diferente y presenta un promedio por debajo de los porcentajes del mes anterior con un 35 % de gravas.

A partir del cuarto mes se presenta un tendencia de disminución en todos los tratamientos, que continua hasta el sexto mes, donde se reporta un promedio de gravas de 16 % en *C. laxus*, 23 % en el tratamiento con ambas especies, 25 % en el testigo y 26 % en el tratamiento con la especie *P. arundinaceum*. Este intervalo del cuarto al sexto mes, representa un grupo estadísticamente diferente, en todos los tratamientos, con respecto a los tres meses anteriores.

El análisis estadístico comparativo entre tratamientos por cada uno de los meses, revelo que no existen diferencias entre tratamientos en los primeros tres meses. En el cuarto mes se presentan diferencias significativas entre los tratamientos con plantas y el tratamiento sin ellas ($P = 0.020498$). El quinto mes no presenta diferencias estadísticamente validas entre tratamientos. En el último mes *C. laxus* presenta diferencias estadísticas con los otros tratamientos ($P = 0.0436394$).

Así mismo, un análisis comparativo entre muestras de diferentes profundidades por cada uno de los meses, para cada tratamiento por separado, nos indica que en el tratamiento con la especie *P. arundinaceum*, existen diferencias significativas ($P= 0.012396$) entre las cantidades de gravas en las muestras de cinco cm. y las de diez cm. profundidad en el sexto mes de actividad.

Las muestras del tratamiento con la especie *C. laxus*, se presentan diferencias significativas entre las muestras superficiales de suelo y las tomadas en las otras dos profundidades, durante los dos meses finales del experimento ($P = 0.000077$ y $P = 0.001515$, respectivamente).

En el caso del tratamiento con las dos especies de plantas, solo se presentan diferencias estadísticamente validas en el sexto mes de actividad, entre las muestras de diez cm. y las superficiales ($P = 0.011292$).

En el tratamiento testigo se presentan diferencias significativas en el cuarto y quinto mes entre las muestras de diez cm. de profundidad y las muestras tomadas de la superficie ($P = 0.028995$ y $P = 0.044844$), mientras que en el sexto mes, las diferencias se encuentran con las muestras tomadas a cinco cm. y las de diez cm ($P = 0.04653.2$).

9.3.2 Arenas

En la Figura 9.10., se presenta la distribución de arenas en los diferentes tratamientos en tres profundidades a lo largo de seis meses.

En muestras superficiales (Fig. 9.10.A), se presenta un decremento en los porcentajes de arenas después de un mes de actividad, con respecto al valor inicial (25 %), con valores de 11 % para el tratamiento con la especie *P. arundinaceum*, 13.5 % con *C. laxus*, 9 % para el tratamiento conjunto y 12.2 % para el Testigo.

En el segundo mes, se observa un importante incremento en las cantidades de arenas presentes en las muestras de todos los tratamientos, con valores de 47.5, 41.5, 35.5 y 38.5 % en *P. arundinaceum*, *C. laxus*, las dos especies y testigo respectivamente.

Las muestras de suelo correspondientes al tercer mes mostraron una tendencia de aumento en los porcentajes de arenas en los tratamientos con la especie *C. laxus* (45 %), con ambas especies (40.5 %) y testigo (53.5 %). En el caso del tratamiento con *P. arundinaceum* se presentaron valores inferiores a lo correspondientes al mes anterior (31 %).

El patrón de aumento en la cantidad de arenas continúa durante los tres meses restantes del experimento, reportando porcentajes finales de arena de 52.45 % en el tratamiento testigo, 51.15 % en el tratamiento con las dos especies, 47.95 % en el caso de *P. arundinaceum* y 46.35 % en *C. laxus*.

Las cantidades de arenas en todos los tratamientos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los primeros dos meses; el tratamiento con *P. arundinaceum* ($P = 0.020953$), en las muestras de *C. laxus* ($P=0.000213$); en el tratamiento conjunto ($P = 0.0001458$ y en el testigo ($P=0.040830$).

En un análisis de comparación entre tratamientos por cada mes, se observa que no existen diferencias estadísticamente validas entre tratamientos en ninguno de los seis meses.

En la figura 9.10.B, se presenta los porcentajes de arenas en muestras de suelo tomadas a cinco cm. de profundidad, donde se observa que en el primer mes los promedios de arenas disminuyen en todos los tratamientos con 12.5 % en el tratamiento con *P. arundinaceum*, 13.5 % en *C. laxus*, 10 % en el tratamiento con las dos especies y 12 % en el grupo testigo.

En el siguiente mes, se presenta un incremento en los porcentajes de arenas, con mayor intensidad en el tratamiento con la especie *C. laxus*, que reporta un 51 %, que es el doble de la cantidad de arenas reportadas al inicio del experimento (25 % de arenas). El tratamiento con *P. arundinaceum* presento 36.5 %, el tratamiento conjunto 35 % y el testigo 32 %.

A partir del tercer mes, se presenta un tendencia de aumento constante en todos los tratamientos, que toma valores finales (sexto mes) de 56.6 % de arenas en las unidades con la especie *C. laxus*, 52.15 % en el testigo, 51.85 % en el tratamiento con ambas especies de plantas y 50.5 % con *P. arundinaceum*. El comportamiento que se observa, también se encuentra expresado en los análisis estadísticos, en donde se aprecia que todos los tratamientos presentan diferencias significativas ($P = 0.005617$, $P = 0.008464$, $P = 0.000031$ y $P=0.00173$, respectivamente) con respecto a los primeros dos meses.

El análisis estadístico de los datos obtenidos, para comparar a los tratamientos entre sí por cada uno de los meses, revelo que no existen diferencias entre las cantidades de arenas entre los tratamientos.

La cantidad de arenas presente en muestras de diez cm. de profundidad (Fig. 9.10.C) presenta el mismo comportamiento que se observa en las dos profundidades anteriores, con un decremento de la mitad de la cantidad de arenas determinadas al inicio, seguido de un importante aumento en los porcentajes con 45.5 % en el tratamiento con *P. arundinaceum*, 36 % en *C. laxus*, 30 % en el tratamiento con ambas especies y 42 % en el testigo.

Del tercero al sexto mes de actividad, se presenta una curva ascendente en las cantidades de arenas presentes en todos los tratamientos, con porcentajes finales de 53.05 en *P. arundinaceum*, 46.25 en *C. laxus*, 59.6 en el tratamiento con las dos especies de plantas y 53.1 en el grupo testigo. Este intervalo de incrementos graduales, se encuentra representado por un grupo estadísticamente diferente con respecto a los resultados de los primeros meses del experimento, en cada uno de los tratamientos ($P=0.000001$ para *P. arundinaceum*, $P=0.001021$, en *C. laxus*,

$P=0.037115$ en tratamiento con ambas especies y $P = 0.000062$ para el tratamiento testigo).

Los análisis estadísticos entre tratamientos por cada uno de los meses, reveló que existen diferencias significativas por parte de los tratamientos testigo y *P. arundinaceum* con respecto al tratamiento conjunto en el cuarto mes ($P=0.006953$). En el quinto mes, las diferencias se observan entre el tratamiento con *C. laxus* y los otros tres tratamientos ($P= 0.003964$). En el sexto mes se presentan diferencias entre el tratamiento conjunto y el tratamiento con *C. laxus* ($P = 0.011306$).

En un análisis comparativo entre muestras de diferentes profundidades por cada uno de los meses, en cada tratamiento por separado, nos indica que en el tratamiento con *P. arundinaceum* las muestras de diez cm. de profundidad, presentan diferencias significativas ($P = 0.028879$ y $P = 0.019272$) con respecto a las muestras tomadas de superficie en los meses tres y cuatro.

En el tratamiento con *C. laxus*, se observan diferencias significativas ($P = 0.000103$ y $P = 0.032390$) entre las muestras de cinco cm. y las muestras de las dos profundidades restantes, durante los meses cinco y seis.

El tratamiento con ambas especies de plantas, solo presenta diferencias estadísticamente significativas entre las muestras de diez cm. y las tomadas de la superficie de las unidades experimentales durante el cuarto mes ($P = 0.042513$).

El tratamiento testigo, también presenta diferencias significativas ($P=0.030965$), en el cuarto mes de actividades entre las muestras de diez cm. y las muestras de suelo de la superficie.

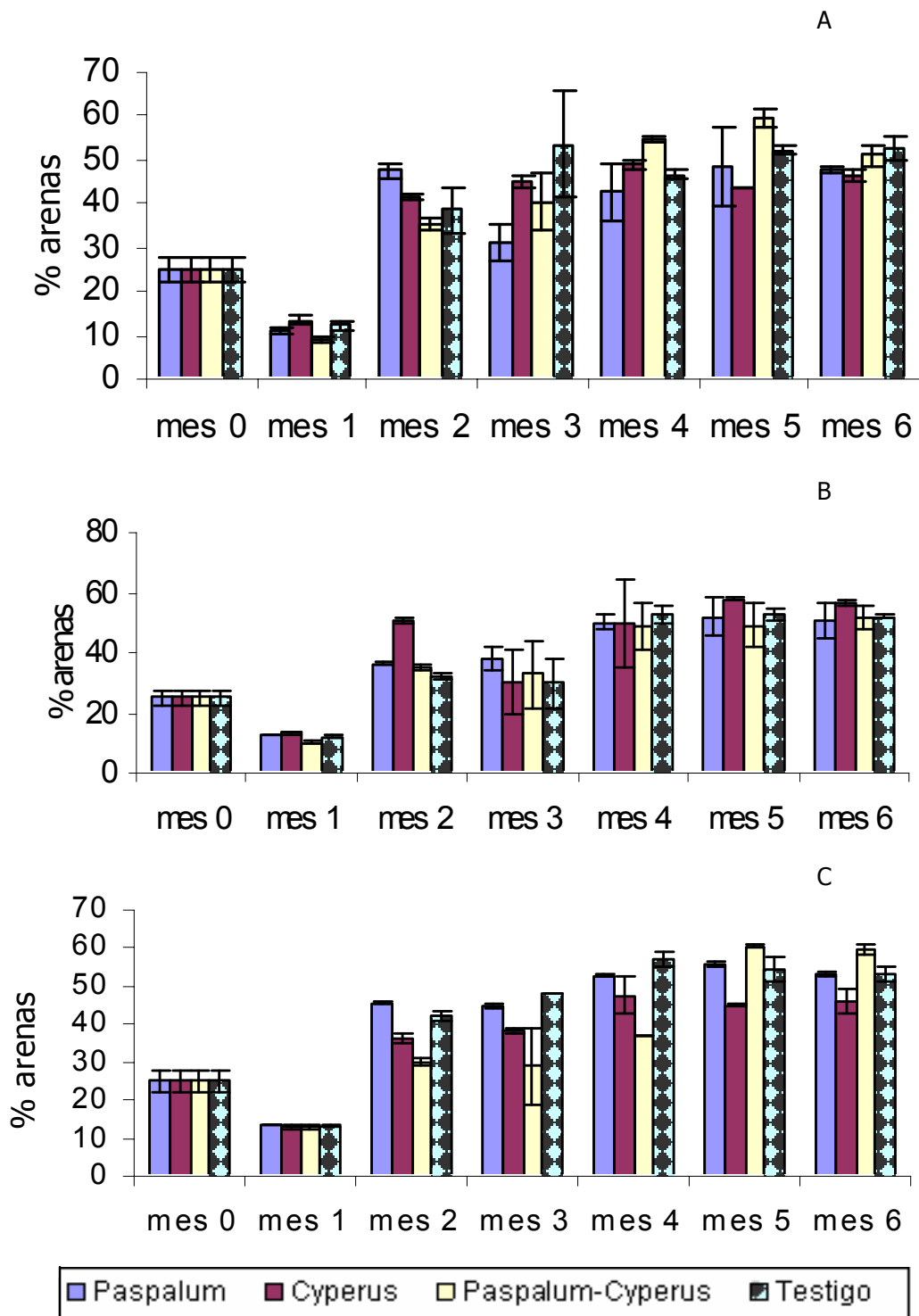


Figura 9. 10. Porcentaje de arenas en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras superficiales; B) muestras de cinco cm. de profundidad y C) muestras de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.

9.3.3 Limos gruesos

En la figura 9.11, se presenta la distribución de los limos gruesos en las diferentes profundidades a lo largo de seis meses, así como en los diferentes tratamientos.

En las determinaciones de limos gruesos, de las muestras superficiales (Fig. 9.11.A), se observa un incremento en los porcentajes en el primer mes con respecto al valor inicial de 6 %, con valores de 11 % en las unidades con la especie *P. arundinaceum*, 12 % en la especie *C. laxus*, 9.5 % en el tratamiento conjunto y 10.8 % en el testigo. En el segundo mes, se presenta una disminución en los tratamientos de *P. arundinaceum* y testigo con un promedio de 7.5 y 8.5 % de limos, respectivamente, mientras que *C. laxus* y el tratamiento con ambas especies, aumentaron con valores de 12.4 y 12.5 %, correspondientemente.

En el tercer mes, los tratamientos con *P. arundinaceum* y testigo, aumentan ligeramente sus porcentajes de limos, 10.25 y 9 % respectivamente, mientras que con *C. laxus* y el tratamiento con las dos especies disminuyen (10 y 10.1 %). Posteriormente, los tratamientos con la especie *C. laxus*, las dos especies y el testigo, presentan un decremento con 7.45, 6.45 y 5.2 % respectivamente, que en el caso de testigo, representa el porcentaje más bajo de los seis meses de experimentación. En el tratamiento con *P. arundinaceum*, se determina el valor más elevado de limos en las muestras de suelo de todo el periodo experimental, con 20.75 %.

En el último bimestre, se aprecia una disminución en las cantidades de limos con valores finales de 11.35 % en las muestras de *P. arundinaceum*, 7.9 % en grupo con *C. laxus*, 8.45 % en el tratamiento con las dos especies y 7.15 % en el testigo.

Todos los valores reportados en los diferentes tratamientos no muestran diferencias estadísticas con respecto a la concentración inicial de limos. Sin embargo, en el análisis comparativo entre tratamientos por cada uno de los meses, se observa que el tratamiento con la especie *P. arundinaceum*, presenta diferencias significativas ($P = 0.018091$), con respecto a los otros tratamientos en el cuarto mes.

En el quinto mes de actividad los tratamientos con *P. arundinaceum* y las dos especies, presentan diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.0087109$), con respecto al testigo. En el sexto mes, se presentan diferencias significativas entre el tratamiento con *P. arundinaceum* y el testigo ($P=0.034427$)

La cantidad de limos presentes en las muestras de cinco cm. de profundidad (Fig. 9.11.B), muestra un incremento durante los dos primeros meses de actividad, en todos los tratamientos, registrando los porcentajes más elevados de todo el

periodo experimental en los tratamientos con la especie *P. arundinaceum* y con ambas especies de plantas, con valores de 20.63 y 16.15 %, respectivamente. El tratamiento con *C. laxus* y el tratamiento sin plantas, presenta 12.59 y 16.15 % de limos, correspondientemente.

Durante el tercer mes, se presenta un comportamiento diferencial entre los tratamientos, mientras *P. arundinaceum* y el tratamiento conjunto reflejan una disminución en los porcentajes de limos con promedios de 7.7 y 9.8 %, respectivamente, los tratamientos con *C. laxus* y testigo presentan los valores más elevados de los seis meses, con 18.65 y 17.9 %, respectivamente.

En el último bimestre de experimentación, los porcentajes de limos de los tratamientos con *P. arundinaceum* y las dos especies en conjunto, tienden a incrementarse con valores finales de 17.7 y 11.5 %, mientras que los promedios del tratamiento con *C. laxus* reportan 16.9 % y para el testigo de 5.9 %. De todos los tratamientos, el único que presenta diferencias significativas ($P = 0.017866$) con respecto a la cantidad inicial de limos (6 %) es *P. arundinaceum*, en los meses dos y seis.

El análisis comparativo entre tratamientos por cada mes, refleja que no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos durante los primeros cuatro meses. Pero en los dos últimos meses, los tratamientos con *C. laxus* y *P. arundinaceum*, presentan diferencias significativas con el tratamiento testigo ($P=0.048116$ y $P=0.033202$).

En las muestras de diez cm. de profundidad (Fig. 9.11.C) la cantidad de limos presentes en el tratamiento con la especie *C. laxus*, desciende durante el primer mes, con el valor más pequeño reportado para cualquier profundidad con un 1% de limos presentes, mientras que los otros tratamientos, se mantienen con valores muy similares al 6 % inicial.

El segundo mes presenta incrementos en todos los tratamientos, con valores de 13.5 % en el tratamiento con ambas especies de plantas, 8.54 % en el testigo, 8.44 % en *C. laxus* y 8.33 % en el tratamiento con *P. arundinaceum*, sin embargo, estos incrementos no presentan diferencias significativas con respecto a la concentración inicial de limos. En el tercer periodo de evaluación, los valores se mantienen sin variaciones entre los diferentes tratamientos.

A partir de cuarto mes se presentan una serie de incrementos en la cantidad de limos en los tratamientos con ambas especies y el testigo, reportando el máximo porcentaje de todo el periodo experimental en ambos casos con 19.75 y 18.1 % respectivamente. En el último bimestre, las concentraciones de estos dos tratamientos disminuyen con promedios de 12.3 y 15.3 %.

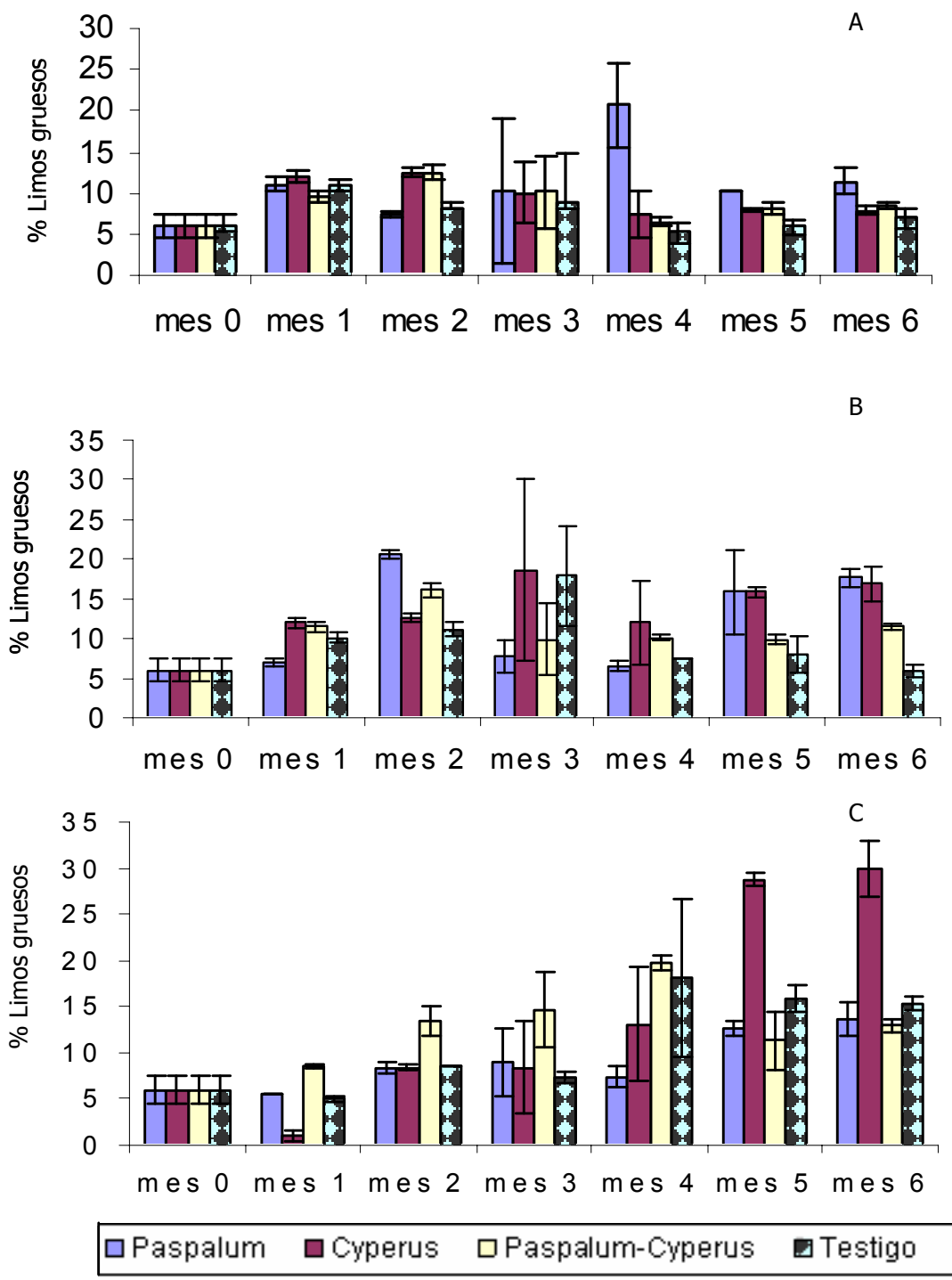


Figura 9. 11. Porcentaje de limos gruesos en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras de suelo superficiales; B) muestras de suelo de cinco cm. de profundidad y C) muestras de suelo de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.

En el caso de los tratamientos con *P. arundinaceum* y *C. laxus*, el aumento en las cantidades de limos son graduales durante los tres meses, hasta que alcanzan su mayor porcentaje en el sexto mes con 13.65 y 29.95 %. Los valores de limos correspondientes a este intervalo (del cuarto al sexto mes) en el tratamiento con *C. laxus*, presenta diferencias significativas con respecto al valor del primer mes ($P= 0.002256$). El testigo, también presenta diferencias significativas ($P=0.023420$) en el quinto y sexto mes con respecto al valor inicial. Los tratamientos con la especie *P. arundinaceum* y ambas especies, no presentan diferencias significativas en ningún mes con respecto al valor de inicio.

El análisis comparativo entre tratamientos por cada mes nos indica que no existen diferencias entre los cuatro tratamientos durante los primeros cuatro meses. En el último bimestre, el tratamiento con la especie *C. laxus* presenta diferencias estadísticas significativas con respecto a los otros tres tratamientos con probabilidades de $P = 0.011166$ y $P = 0.002598$, respectivamente.

En la comparación estadística entre profundidades de un mismo tratamiento, se observa que en el cuarto mes de actividad, el tratamiento con *P. arundinaceum* presenta diferencias estadísticas ($P = 0.013869$) entre los valores de limos correspondientes a la muestras de la capa superficial y los porcentajes de las otras dos profundidades

En el caso de *C. laxus*, se reflejan diferencias significativas entre las cantidades de limos presentes en las tres profundidades en el quinto y sexto mes ($P = 0.000097$ y $P = 0.002504$, respectivamente).

El tratamiento testigo mostró diferencias estadísticamente significativas ($P=0.030596$ y $P =0.029690$) entre las muestras superficiales y las muestras de diez cm. de profundidad en el cuarto y quinto mes, de manera similar en el sexto mes, las muestras de diez cm. presentan diferencias con respecto a la profundidad de cinco cm. y las de la capa superficial ($P=0.006957$).

9.3.4 Arcillas y limos finos

En la figura 9.12 se presenta la distribución de los limos gruesos en las diferentes profundidades a lo largo de seis meses, así como en los diferentes tratamientos.

En muestras superficiales de suelo (Fig. 9.12.A) se observa un incremento en las cantidades de arcillas y limos finos en los primeros dos meses, con valores de 4 % en *P. arundinaceum*, 4.9 % en *C. laxus*, 6.7 % en el tratamiento con las dos especies (destacando que los porcentajes de los dos últimos tratamientos, corresponden a los valores máximos registrados de este tamaño de partícula para este tratamiento en todo el experimento) y 2.9 % en testigo.

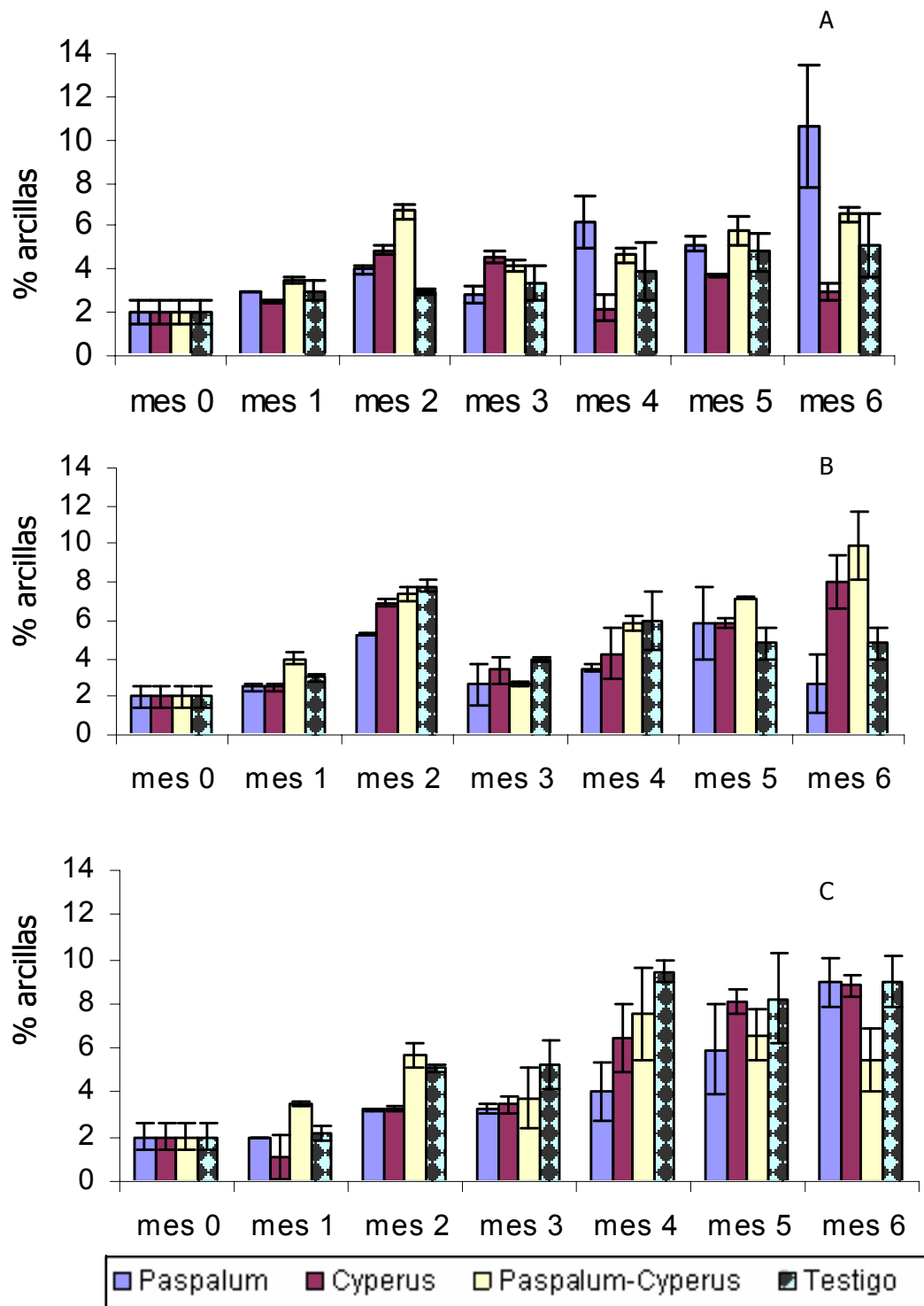


Figura 9. 12. Porcentaje de arcillas y limos finos en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras de suelo superficiales; B) muestras de suelo de cinco cm. de profundidad y C) muestras de suelo de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.

Los tratamientos con *P. arundinaceum*, las dos especies y el testigo, presenta un claro patrón de incremento en las cantidades de arcillas presentes, desde el cuarto mes hasta tomar valores finales en el sexto mes del experimento de 10.7, 6.55 y 5.15 %, respectivamente. Sin embargo, solo las cantidades de arcillas y limos finos en las muestras del quinto y sexto mes de los tratamientos *P. arundinaceum* y las dos especies presentan diferencias significativas ($P=0.007619$ y $P = 0.046262$) con respecto al valor inicial (2 %). El testigo no presenta diferencias estadísticamente validas.

El caso del tratamiento con la especie *C. laxus*, presenta un patrón inverso a los otros tres tratamientos, con disminuciones graduales en las cantidades de arcillas desde el cuarto mes, hasta alcanzar un promedio final de 2.95 %. Las cantidades de arcillas determinadas en el segundo y tercer mes, son las únicas que presentan diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.028473$), con respecto al porcentaje inicial.

En el análisis comparativo entre tratamientos por mes, se observa que no existen diferencias significativas entre tratamientos durante los primeros tres meses. En el cuarto y sexto mes el tratamiento con *C. laxus*, presenta diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.011427$ y $P = 0.015821$) con respecto al tratamiento con *P. arundinaceum*.

En la figura 9.12.B se muestra la distribución de las arcillas y limos finos en las muestras procedentes de cinco cm. de profundidad, en la cual se aprecia que los cuatro tratamientos presentan un aumento en los porcentajes de arcillas y limos finos presentes durante el primer bimestre con valores de 5.22 % para *P. arundinaceum*, 6.9 % con *C. laxus*, 7.4 % en el tratamiento con ambas especies y 7.78 % en el testigo (valor máximo registrado para este tratamiento durante todo el experimento).

En el segundo bimestre se observa un comportamiento inverso, el tercer mes presento una disminución en las cantidades, con promedios de 2.65 % para las muestras de suelo de *P. arundinaceum*, 3.4 % en *C. laxus*, 2.78 en el tratamiento con las dos plantas y 3.95 % en el tratamiento testigo, mientras que el cuarto mes reflejo una recuperación en las cantidades de arcillas presentes con valores de 3.5 % en las muestras de *P. arundinaceum*, 4.25 % en *C. laxus*, 5.85 % en el tratamiento con ambas especies de plantas y 6 % en el suelo sin cobertura vegetal.

El bimestre final, mostró un nuevo incremento de valores con promedios de 5.85 % en *P. arundinaceum*, valor que corresponde al máximo registrado para este tratamiento en el periodo experimental, mientras que para los tratamientos con *C. laxus* y con ambas especies de plantas el máximo se registro hasta el sexto mes con promedios de 8 y 9.95 %, respectivamente. El tratamiento testigo presento

valores idénticos durante las ultimas dos determinaciones mensuales con un promedio de 4.8 %.

El análisis comparativo entre cada uno de los meses nos indica que las muestras de suelo de las unidades con *P. arundinaceum* no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las cantidades de arcillas y limos en todo el periodo experimental. En muestras del tratamiento con la especie *C. laxus* se observo diferencias entre el promedio inicial y los meses dos y seis ($P= 0.027471$). Las muestras de suelo del tratamiento con ambas especies de plantas presentaron diferencias significativas entre el ultimo mes y el valor de inicio ($P = 0.030460$). El tratamiento en ausencia de plantas mostró diferencias estadísticamente validas entre el valor inicial y los meses dos y cuatro ($P=0.045995$).

Los resultados de los análisis estadísticos comparativos entre tratamientos revelaron que no existe diferencia entre la cantidad de arcillas y limos finos presentes en las muestras de suelo de los tratamientos durante los primeros cinco meses de estudio, pero en el sexto mes las muestras de suelo del tratamiento con la especie *C. laxus* presenta diferencias significativas con respecto al tratamiento con *P. arundinaceum* ($P=0.041326$).

En la figura 9.12.C, se observa la distribución de arcillas y limos finos en muestras de diez cm. de profundidad, en las cuales se presenta un incremento durante los primeros dos meses, con porcentajes de 3.26 en *P. arundinaceum*, 3.29 en *C. laxus*, 5.67 en el tratamiento con ambas especies de plantas y 5.09 en el testigo.

A partir del tercer mes, se presenta un comportamiento diferencial entre los tratamientos *P. arundinaceum* y *C. laxus*, con respecto al tratamiento conjunto y el testigo. En los primeros dos tratamientos, se presenta un tendencia de incremento mes por mes, hasta alcanzar sus valores máximos en el ultimo mes con 8.95 % en *P. arundinaceum* y 8.85 % en *C. laxus*. El tratamiento con ambas especies y el testigo por su parte presenta un incremento muy importante en las cantidades de arcillas y limos finos durante el cuarto mes, con 7.55 y 9.45 % respectivamente, seguido de una ligera disminución durante los dos últimos meses, reportando como porcentajes finales 5.5 y 9 %, respectivamente.

Sin embargo, todos los tratamientos presentan diferencias estadísticamente significativas, en el intervalo del cuarto al sexto mes, con respecto a la cantidad de arcillas y limos finos presentes en el inicio del experimento (2 %). En *P. arundinaceum* ($P = 0.002753$), con *C. laxus* ($P = 0.029534$), en el tratamiento conjunto ($P = 0.036241$) y en el testigo ($P = 0.000801$).

En el análisis comparativo entre tratamientos por cada uno de los meses, se observa que no existen diferencias estadísticamente validas durante los primeros tres meses. En el cuarto mes, el tratamiento testigo presenta diferencias

significativas ($P = 0.042654$), con respecto a los tratamientos con *P. arundinaceum* y *C. laxus*. En el sexto mes, el testigo también reporta diferencias estadísticas con una $P = 0.048761$, con respecto al tratamiento conjunto.

La comparación realizada entre las muestras a diferentes profundidades por cada mes, para cada tratamiento por separado, nos indica que en las muestras de las tres profundidades del tratamiento con la especie *P. arundinaceum* no presentan diferencias estadísticas en los primeros cinco meses. En el sexto mes, las muestras de cinco cm. presentan diferencias significativas ($P = 0.006563$) con respecto a las muestras de suelo de la capa superficial.

En el tratamiento con *C. laxus*, no se presentan diferencias entre las tres profundidades en los primeros tres meses. En el cuarto mes se observan diferencias estadísticas entre las muestras superficiales y las procedentes de los diez cm. ($P = 0.046043$). Para el quinto mes las muestras de las tres profundidades son diferentes entre sí ($P = 0.001135$) y por último en el sexto mes las muestras de la capa superficial presenta diferencias ($P = 0.006793$) con respecto a las otras dos profundidades.

El tratamiento con las dos especies de plantas, no presenta diferencias estadísticas significativas durante cinco meses y en el último mes de actividad, las muestras de suelo de diez cm. de profundidad registran diferencias con respecto a las muestras de cinco cm ($P = 0.038993$).

Las muestras del tratamiento testigo no presentaron diferencias entre las profundidades durante los dos primeros meses, pero en el tercero y cuarto mes, las muestras de diez cm. presentaron diferencias significativas ($P=0.017865$) con respecto a las muestras de la capa superficial. En el último bimestre las muestras de diez cm. fueron estadísticamente diferentes ($P=0.012456$ y $P = 0.009869$), con respecto a las muestras procedentes de las otras dos profundidades.

9.4. Interacción del tamaño de partícula y la variación en la concentración de hidrocarburos.

Consideraciones estadísticas

El número de muestras mensuales de cada una de las cinco variables fue de nueve, a los cuales se aplicó las pruebas de normalidad e igualdad de varianza, para verificar que se cumplieran los supuestos de las pruebas.

Para medir el grado de interacción entre los diferentes tamaños de partículas presentes en el suelo y la concentración de HTP en cada uno de los meses se utilizó la prueba de correlación múltiple Canónica ($\alpha=0.05$). Los resultados de las correlaciones se presentan para cada uno de los tratamientos.

- **Tratamiento sin plantas.**

En la figura 9.13 se muestran los diagramas de dispersión de datos (mensuales) correspondientes al análisis de correlación múltiple entre la concentración de HTP y los cuatro tamaños de partícula para el tratamiento sin plantas.

Los datos correspondientes al primer mes (Fig. 9.13.A) presentan una tendencia de correlación lineal entre la cantidad de hidrocarburos y los cuatro tamaños de partícula con un coeficiente $r = 0.929014$, $P = 0.051117$. En el segundo mes (Fig. 9.13.B) los valores no presentan la misma tendencia anterior y reportan un coeficiente $r=0.788554$, $P = 0.320888$.

En el tercer mes (Fig. 9.13.C) el 99 % de la variación en la concentración de HTP se encuentra explicada por la cantidad y distribución de los cuatro tamaños de partícula con una correlación de $r = 0.994986$ y una probabilidad de $P=0.024086$, destacando que la mayor influencia en la concentración de HTP es la cantidad de arcillas presentes, seguida de la cantidad de arenas. El comportamiento de los datos se puede explicar mediante la ecuación $[HTP]=253942.5 + 2183.864$ (gravas) $+ 2192.839$ (arenas) $- 915.6414$ (limos) $+ 40404.25$ (arcillas), que en conjunto con el análisis de las correlaciones parciales revela que las arcillas son los elementos que más aportan a la explicación, con una correlación de $r = 0.822936$ y una probabilidad de $P=0.012100$.

Los resultados del análisis de los datos del cuarto mes (Fig. 9.13.D), presenta una correlación lineal entre los HTP y la distribución de las partículas ($r=0.938932$; $P = 0.038740$), la cual es explicada por la ecuación $[HTP] = 68624.46 + 514.6561$ (gravas) $- 611.6301$ (arenas) $+ 101.3425$ (limos) $+ 2985.303$ (arcillas). En la ecuación se observa que el mayor porcentaje de la variación se explica mediante el aporte de las arcillas, sin embargo en el análisis de las correlaciones parciales, no se observa la influencia dominante de ninguno de los cuatro tamaños de partícula sobre la concentración de hidrocarburos.

En el quinto mes (Fig. 9.13.E) se presenta una alta correlación ($r = 0.933538$; $P= 0.045297$) entre las variables, en la cual se observa que el 93 % de la variación en la concentración de hidrocarburos se explica por la distribución y cantidad del tamaño de partículas, como lo demuestra la ecuación $[HTP] = 41598.21 - 39.25422$ (gravas) $+ 446.973$ (arenas) $+ 471.3305$ (limos) $+ 1460.886$ (arcillas). Las pendientes correspondientes y las correlaciones parciales, nos indican que las arcillas ($r = 0.0912954$, $P = 0.000588$) y los limos gruesos ($r = 0.914081$, $P = 0.000562$) son los dos factores que más aportan a la explicación de la distribución de los hidrocarburos.

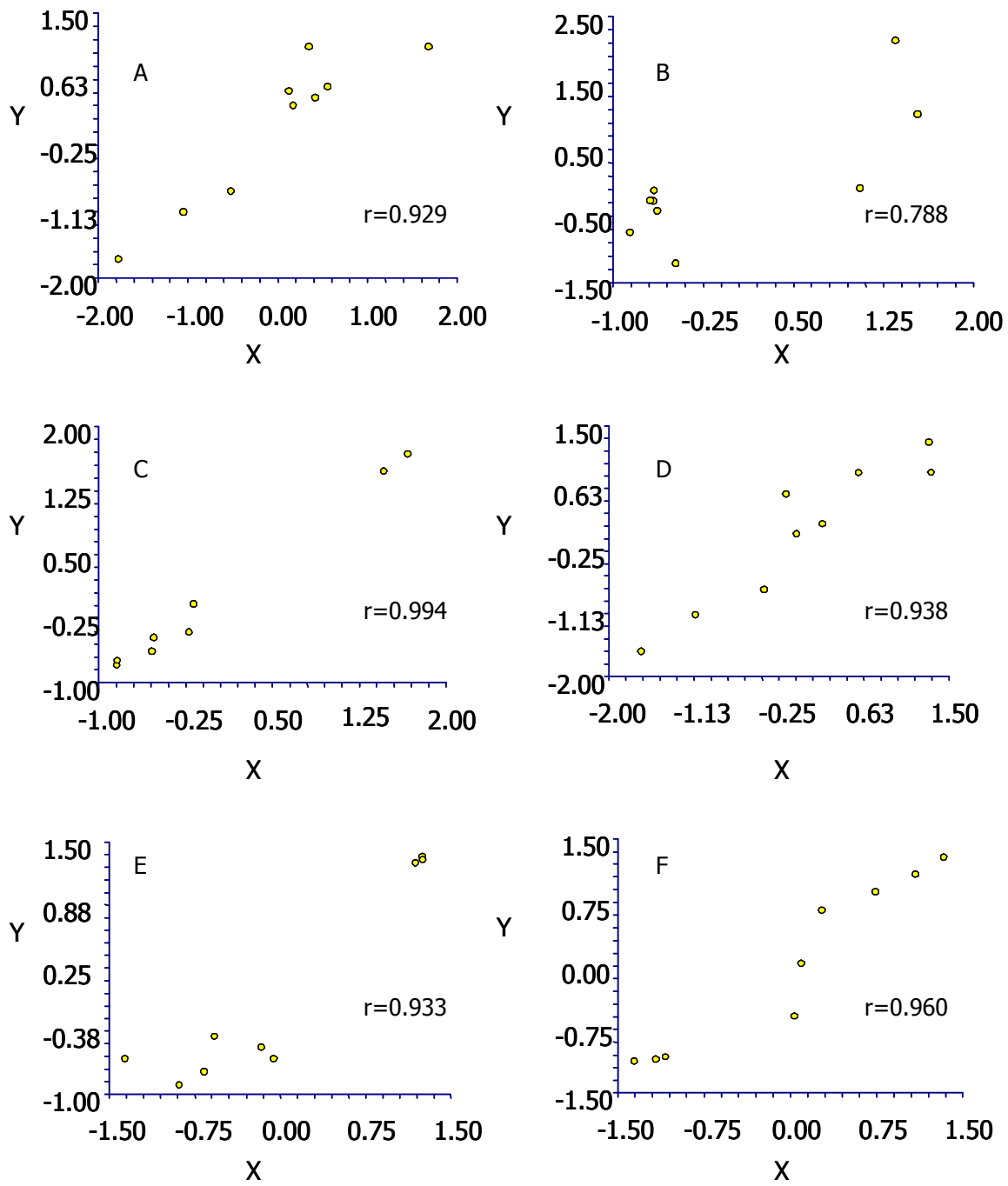


Figura 9. 13. Diagramas de dispersión de las correlaciones múltiples del tratamiento sin plantas; A) primer mes; B) segundo mes; C); tercer mes D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.

En el último mes (Fig. 9.13.F) se observa que el 96 % de la variación en la cantidad de hidrocarburos se encuentra determinada en orden descendente por la cantidad de arcillas, limos y la reducción en las arenas y las gravas ($r=0.960954$; $P= 0.016690$), que se ve reflejada en la ecuación $[HTP] = 1171158 - 2057.008(\text{gravas}) - 22404.06 (\text{arenas}) + 26855 (\text{limos}) + 62700.11 (\text{arcillas})$. En las correlaciones parciales estos resultados se ven corroborados, ya que las arcillas presentan un coeficiente de correlación $r=0.758063$ ($P = 0.017934$) y los limos gruesos con un valor muy cercano con $r = 0.730845$ ($P = 0.25298$).

De los seis meses analizados, los últimos cuatro presentaron una correlación lineal entre la concentración de HTP y el tamaño de partícula, destacando la influencia de las arcillas y los limos gruesos.

- **Tratamiento con *P. arundinaceum*.**

En la figura 9.14 se muestran los diagramas de dispersión correspondientes a los seis meses del tratamiento con la especie *P. arundinaceum*.

Los análisis de correlación correspondientes a los dos primeros meses en las unidades experimentales de *P. arundinaceum* (Fig. 9.14.A y Fig. 9.14.B) no presenta una correlación lineal entre la concentración de hidrocarburos y las distribución y tamaño de partículas ($r = 0.838278$, $P = 0.212594$ y $r = 0.908890$, $P= 0.080223$ respectivamente).

La variación de la concentración de los HTP en el tercer mes (Fig. 9.14.C), se explica por la distribución de los cuatro tamaños de partículas, con una correlación de $r = 0.997888$ ($P = 0.000053$), en la cual se observa que en gran proporción la cantidad de las arenas y las gravas son los dos elementos principales como se observa en las correlaciones parciales ($r = 0.936487$; $P=0.000200$ en gravas y $r = 0.854589$, $P = 0.003339$ en arenas) y en la ecuación de la recta $[HTP] = - 184068.9 + 3403.226 (\text{gravas}) + 1724.305 (\text{arenas}) + 2692.298 (\text{limos}) + 1365.938 (\text{arcillas})$.

En el cuarto mes (Fig. 9.14.D), se observa que la concentración de hidrocarburos se encuentra correlacionada con la cantidad y tamaño de partículas, con una mayor participación de los limos y arcillas en comparación con las arenas y gravas ($r = 0.994752$, $P = 0.000326$), como se puede apreciar en la ecuación de la recta $[HTP] = - 38144 + 1648.051 (\text{gravas}) + 408.4207 (\text{arenas}) + 2186.767 (\text{limos}) + 1869.439 (\text{arcillas})$. El comportamiento también se encuentra reflejado en las correlaciones parciales, donde se puede apreciar que las arcillas presentan una $r = 0.829334$; $P = 0.005698$ y los limos gruesos presentan una correlación de $r = 0.942760$; $P = 0.000140$.

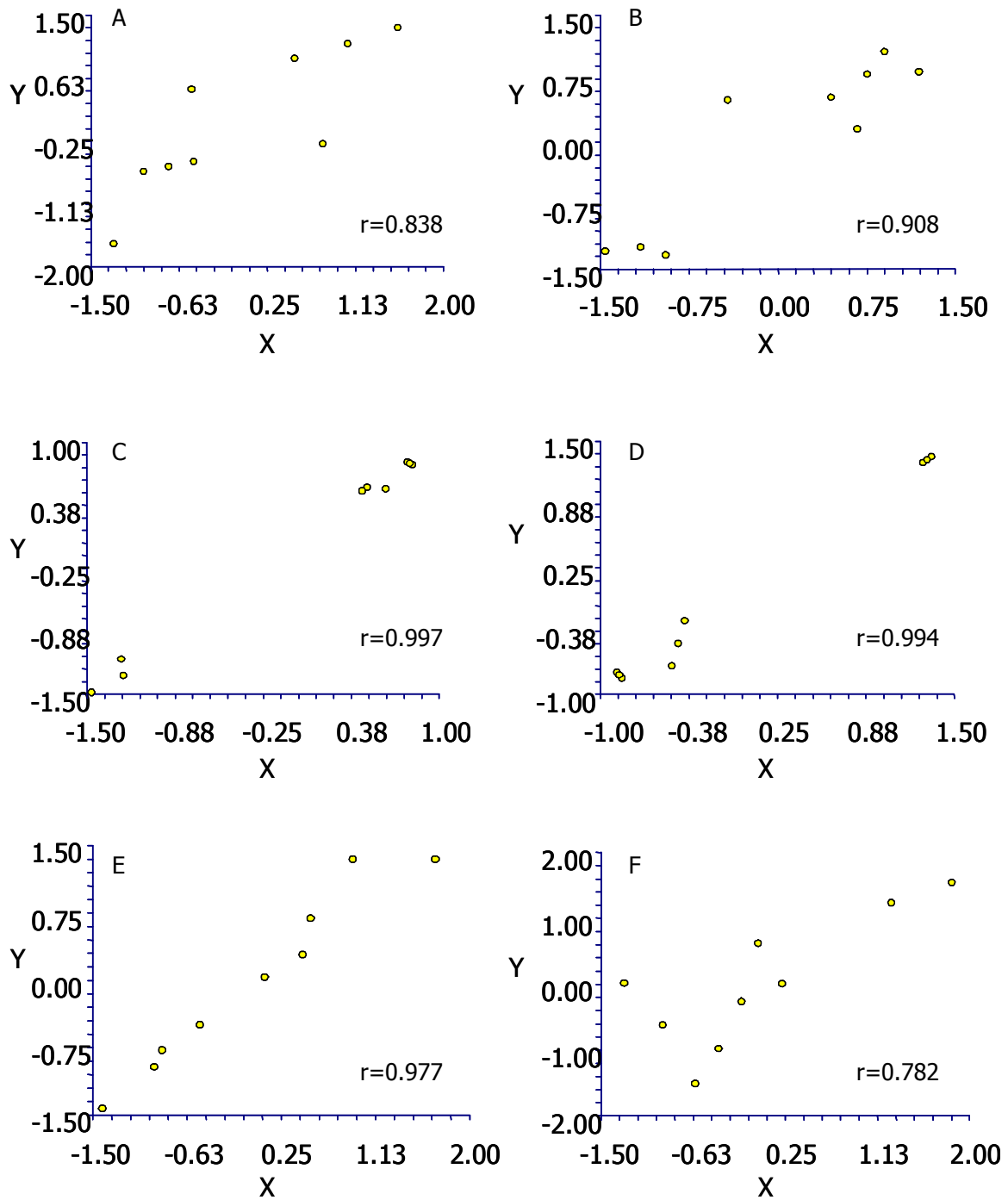


Figura 9. 14. Diagramas de dispersión de las correlaciones múltiples de *P. arundinaceum*; A) primer mes; B) segundo mes; C); tercer mes D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.

El análisis de correlación de los datos de quinto mes (Fig. 9.14.E) revela un comportamiento similar al observado el mes anterior, con un coeficiente de correlación de $r = 0.977123$ y $P = 0.005952$. La variación en la concentración de los hidrocarburos se encuentra explicada por la ecuación de la recta $[HTP] = 670239.5 - 9143.5$ (gravas) $- 7092.222$ (arenas) $- 4886.902$ (limos) $+ 13119.93$ (arcillas). Sin embargo, ningún tamaño de partícula refleja una mayor participación en las correlaciones parciales.

En el último mes (Fig. 9.14.F), no se observa una correlación lineal de la concentración de HTP y los cuatro tamaños de partícula ($r = 0.782681$; $P=0.333970$).

En general, se puede apreciar que de los seis meses analizados, solo tres presentaron correlaciones entre la distribución de hidrocarburos y los cuatro tamaños de partícula, sin que se observe una influencia dominante por parte de alguno de los tamaños.

- **Tratamiento con C. laxus.**

En la figura 9.15 se muestran los diagramas de dispersión correspondientes a las correlaciones de los datos mensuales de las unidades tratadas con C. laxus.

Los datos de los primeros dos meses (Fig. 9.15.A y Fig. 9.15.B) de C. laxus, no presentan correlaciones lineales entre los hidrocarburos presentes y los cuatro tamaños de partículas ($r = 0.874157$; $P = 0.140636$ y $r = 0.704934$; $P=0.504602$).

En tercer mes de actividad (Fig. 9.15.C) la cantidad y distribución de los cuatro tamaños de partícula se encuentran relacionados con la variación en la concentración de hidrocarburos en el suelo, con una mayor participación por parte de las arena y las arcillas, con un coeficiente de correlación de $r=0.982342$ y una probabilidad de $P = 0.003590$. Este comportamiento se observa en la ecuación de la recta $[HTP] = -576801.1 + 5609.262$ (gravas) $+ 8426.408$ (arenas) $+ 8037.503$ (limos) $+ - 7407.82$ (arcillas), así como en los valores de la correlaciones parciales de las arenas ($r=0.675238$; $P = 0.045953$) y las arcillas ($r = 0.789651$; $P = 0.011363$).

En el cuarto mes (Fig. 9.15.D), los resultados de la concentración de hidrocarburos y los cuatro tamaños de partícula se encuentran correlacionados con una $r = 0.977397$ y una probabilidad de 0.005815 . La ecuación de la recta que describe el comportamiento es $[HTP] = 732123.5 - 7500.852$ (gravas) $- 5472.158$ (arenas) $- 5634.608$ (limos) $- 12082.5$ (arcillas). En las correlaciones parciales se puede apreciar la influencia de las arenas ($r = 0.840279$; $P=0.004569$) y de los limos gruesos ($r = 0.717175$; $P = 0.029648$).

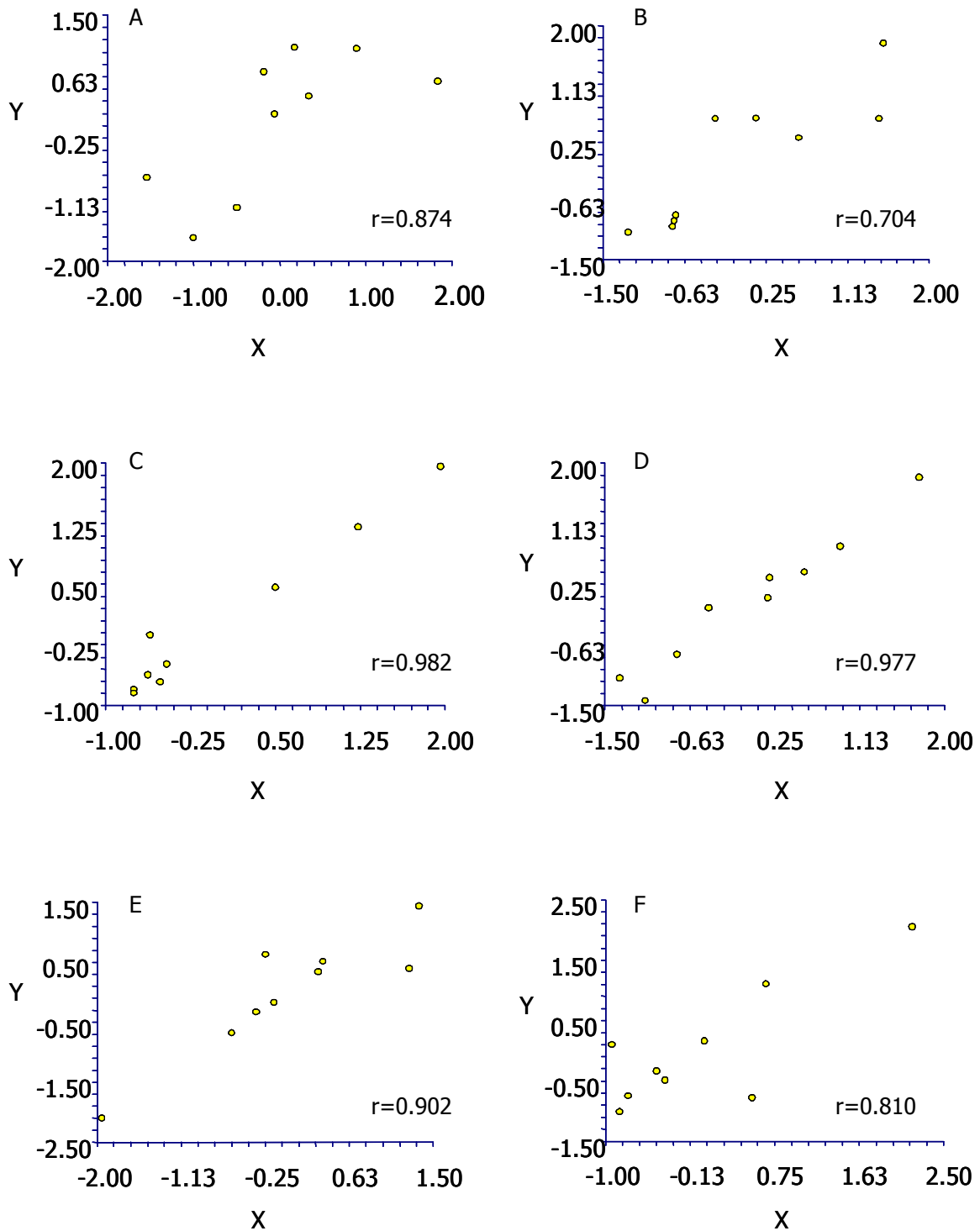


Figura 9. 15. Graficas de correlaciones múltiples de *C. laxus*; A) muestras del primer mes; B) muestras del segundo mes; C) muestras del tercer mes D) muestras del cuarto mes; E) muestras del quinto mes y F) muestras del sexto mes.

En los dos meses finales, (Fig. 9.15.E y Fig. 9.15.F), los resultados de la concentración de HTP y los cuatro tamaños de partícula, no presentaron una correlación lineal ($r = 0.902770$; $P = 0.090018$ y $r = 0.810233$, $P = 0.272947$ respectivamente).

Los análisis de correlaciones múltiples para los datos de *C. laxus*, revelan que solo en dos meses del experimento, la variación de los hidrocarburos puede ser explicada en su mayoría por la influencia del tamaño de partícula

- **Tratamiento con ambas especies de plantas.**

La figura 9.16 presenta los diagramas de dispersión de los datos correspondientes a las seis correlaciones para el tratamiento con las dos especies de plantas.

Los resultados de los primeros tres meses (Fig. 9.16.A, Fig. 9.16.B y Fig. 9.16.C) en el tratamiento con ambas especies, al igual que los otros tres tratamientos, no presentan correlación entre la variación en la concentración de HTP y los cuatro tamaños de partículas ($r = 0.655519$, $P = 0.604747$, $r=0.874922$; $P = 0.139192$ y $r = 0.904378$, $P = 0.087405$, respectivamente).

En el cuarto mes (Fig. 9.16.D), la variación en la concentración de hidrocarburos se encuentra correlacionada con la distribución y tamaño de las partículas con una $r = 0.996024$ y una probabilidad de $P = 0.000188$, el comportamiento de esta interacción se representa en la ecuación de la recta $[HTP] = 655945.7 - 981.7199$ (gravas) - 8260.246 (arenas) - 13336.17 (limos) + 1860.426 (arcillas). En las correlaciones parciales, se puede observar la importancia de las arenas con una $r = 0.842736$ ($P = 0.004339$), los limos $r=0.895514$ ($P = 0.001095$) y arcillas, que presentan una correlación de $r=0.746592$ ($P = 0.020834$).

Los datos correspondientes al quinto mes (Fig. 9.16.E) presentan una correlación de $r = 0.994166$ ($P = 0.000403$) entre la concentración de HTP y la distribución de los cuatro tamaños de partículas, la cual se aprecia en la ecuación de la recta $[HTP] = 154826.1 - 2564.655$ (gravas) - 673.4751 (arenas) - 9404.025 (limos) + 16208.24 (arcillas). Sin embargo, en las correlaciones parciales solo se aprecia una relación lineal entre la cantidad de arenas y la variación de los hidrocarburos ($r = 0.869780$ y $P = 0.002305$).

En el sexto mes (Fig. 9.16.F), los valores no presenta correlación entre las cinco variables evaluadas ($r = 0.880979$, $P = 0.127920$).

La variación en la concentración de los HTP en las muestras del tratamiento con la mezcla de *P. arundinaceum* y *C. laxus*, solo pudieron ser explicadas por los datos del tamaño de partícula en dos de los seis meses del experimento.

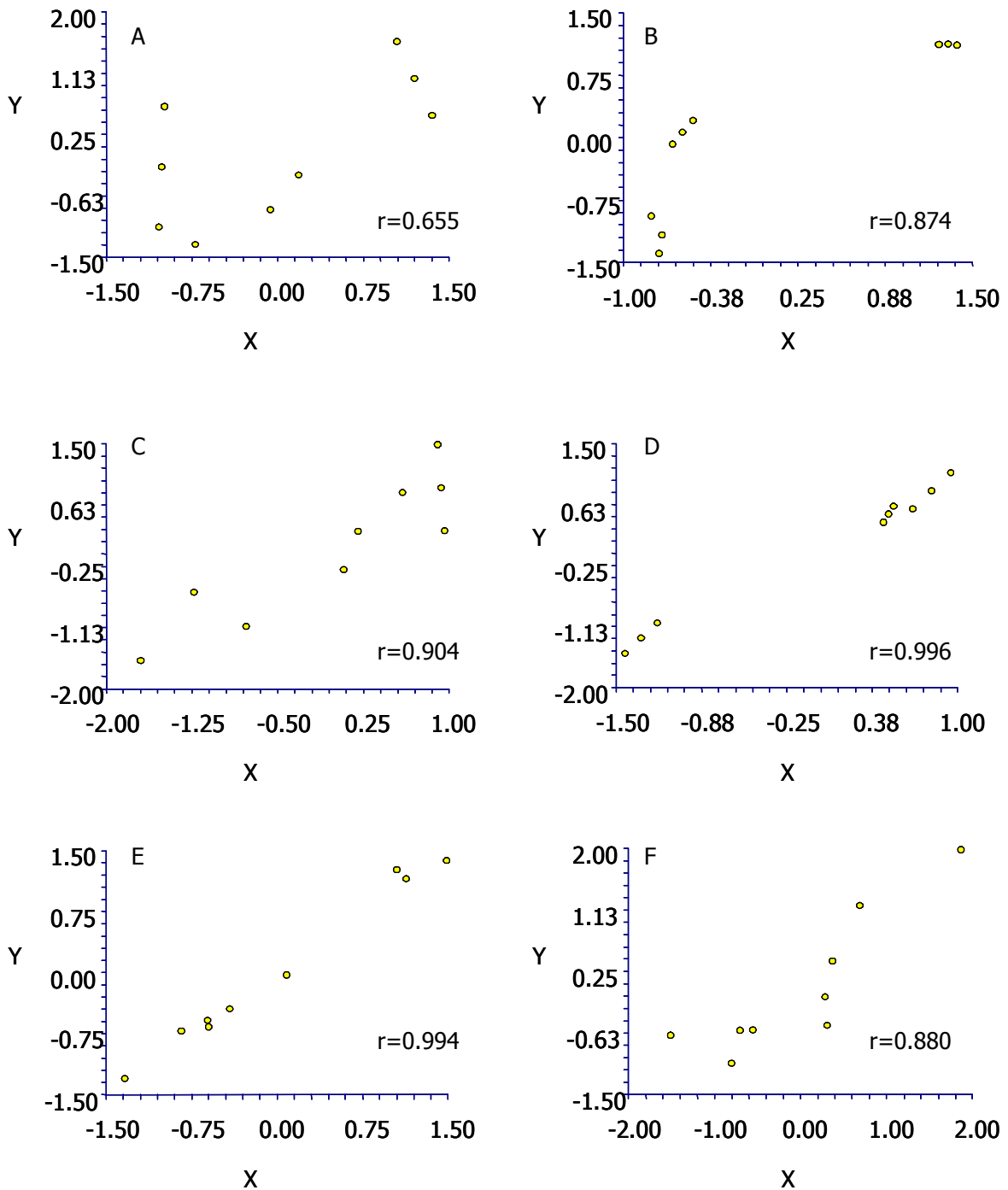


Figura 9. 16. Graficas de correlaciones múltiples del tratamiento con ambas especies de plantas; A) muestras del primer mes; B) muestras del segundo mes; C); muestras del tercer mes D) muestras del cuarto mes; E) muestras del quinto mes y F) muestras del sexto mes

9.5 Determinación de la materia orgánica considerando la profundidad

El resumen de los promedios mensuales de materia orgánica de los cuatro tratamientos (por cada una de las tres profundidades evaluadas), así como los resultados de las pruebas estadísticas se muestran en la tabla 9.11. del anexo de tablas.

Consideraciones estadísticas

El número de repeticiones para la determinación de la materia orgánica fue de dos, con un total de seis para cada uno de los tratamientos por cada mes, sumando 36 muestras por cada tratamiento durante los seis meses de duración del experimento.

Los datos obtenidos se presentan de dos maneras; en porcentajes para las graficas y cantidad de materia orgánica en gramos, para ser sometidos a un análisis de normalidad a través de las pruebas de Simetría, Kurtosis y D`Agostino Ómnibus. Para determinar la igualdad de varianzas, se aplico la prueba modificada de Levene. Para realizar comparaciones entre los datos mensuales de cada tratamiento, entre los tratamientos y entre las profundidades se aplicaron pruebas de ANDEVA y de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer a los datos paramétricos y pruebas de Kruskal-Wallis a los datos no paramétricos, todas ellas con un $\alpha=0.05$.

Determinación de materia orgánica

En la figura 9.17 se muestran los porcentajes de materia orgánica en muestras de diferentes tratamientos en las tres profundidades analizadas.

El porcentaje de materia orgánica en las muestras superficiales (Fig. 9.17.A) presenta un comportamiento muy similar en todos los tratamientos durante los primeros cuatro meses, con porcentajes muy cercanos al promedio inicial de materia orgánica (25.73 %). En el quinto mes el testigo presenta un descenso en su promedio con 18.27 %, con respecto al valor inicial. En el sexto mes las muestras de suelo de *C. laxus* registran una disminución significativa ($P=0.001052$) con un valor de 13.34%. Mientras que los otros tres tratamientos no presentan ninguna diferencia estadística con respecto al porcentaje inicial.

En la figura 9.17.B, se presenta el porcentaje de materia orgánica en muestras de suelo de cinco cm. de profundidad, donde se observa que el tratamiento con la especie *P. arundinaceum*, presenta una disminución en sus valores, con el promedio más bajo registrado para el tratamiento durante el segundo mes con

17.56 %, dato que presenta diferencias estadísticas con respecto al valor de inicio con una probabilidad de $P = 0.039920$. En este mismo periodo, el tratamiento con *C. laxus*, también presenta una disminución con un 18.65 %, sin embargo, no presenta diferencias significativas con respecto al porcentaje inicial de materia orgánica. En el caso de los tratamientos testigo y con ambas especies de plantas, los promedios se mantienen muy cercanos al promedio inicial.

El tratamiento con *P. arundinaceum*, presento un incremento en el tercer mes con respecto al valor observado en el mes anterior, con 21.56 %. Cantidad de materia orgánica que se mantendrá sin grandes variaciones hasta el final del experimento con un promedio de 21.68 %.

A partir del tercer mes, se observa una tendencia de disminución gradual en las cantidades de materia orgánica presentes en las muestras de los tratamientos con la especie *C. laxus*, el testigo y con ambas especies, que registran sus valores más bajos durante el quinto mes con 9.8, 21.34 y 18.08 %. Solamente el porcentaje del tratamiento con *C. laxus* presenta diferencias significativas ($P=0.015102$), con respecto al promedio inicial. En el último mes, los tratamientos testigo y con las dos especies de plantas no presentaron variaciones en sus promedios (18.28 y 22.81 % respectivamente), pero las muestras del tratamiento con *C. laxus* mostraron un gran incremento con un valor final de 27.79%.

En la comparación estadística entre tratamientos para cada uno de los meses, se observa que los tratamientos testigo y con ambas especies, presentan diferencias significativas ($P = 0.000237$) con los otros dos tratamientos en el segundo mes y en cuarto mes el testigo muestra diferencias estadísticas con respecto al tratamiento con las dos especies de plantas ($P=0.013994$).

En muestras correspondientes a los diez cm. de profundidad (Fig. 9.17.C), se observó una disminución en la cantidad de materia orgánica en todos los tratamientos, que se hace evidente a partir del tercer mes de actividad, con promedios de 16.33 % en el tratamiento con *P. arundinaceum*, 20.46 % en *C. laxus*, 23.56 % en el tratamiento conjunto y 15.89 % en el testigo.

La tendencia de disminución en los promedios de materia orgánicas para los tratamientos *P. arundinaceum* y testigo registra en el quinto mes los valores mas bajos del periodo experimental con 8.07 y 13.29 %, respectivamente, mientras que las muestras de *C. laxus* y el tratamiento con ambas especies, muestran sus porcentajes mínimos en el sexto mes, con 13.39 y 14.24, respectivamente. Los valores correspondientes al último bimestre en los cuatro tratamientos, registran diferencias estadísticas con respecto al porcentaje inicial ($P = 0.004763$) en el caso de *P. arundinaceum*, $P=0.014096$ en *C. laxus*, $P = 0.027105$ en el testigo y $P=0.048247$ en el tratamiento con las dos especies.

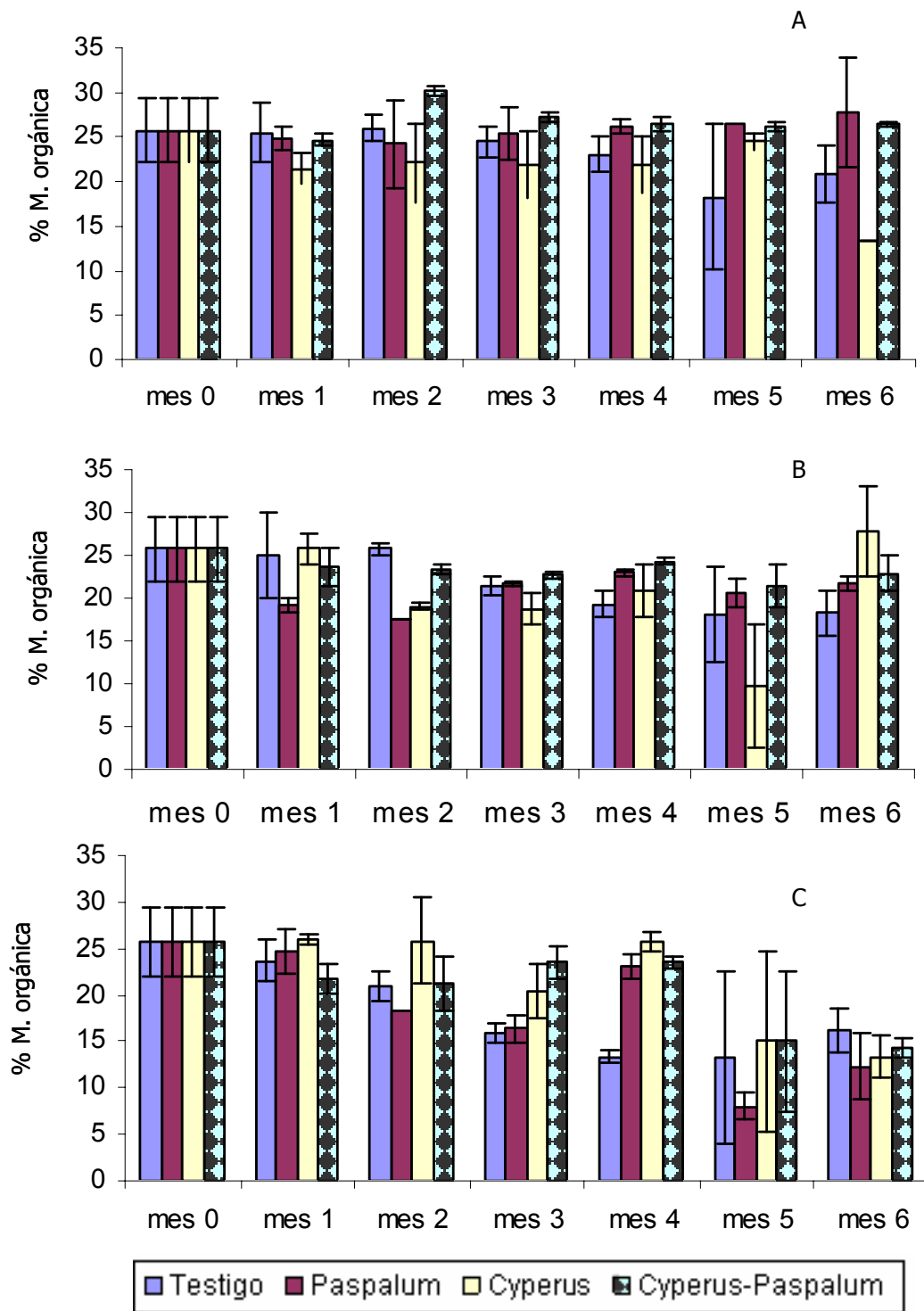


Figura 9. 17. Porcentaje de materia orgánica en diferentes tratamientos durante seis meses: A) muestras de suelo superficiales; B) muestras de suelo de cinco cm. de profundidad y C) muestras de suelo de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar.

Los resultados del análisis comparativo entre tratamientos mostraron que el testigo difiere significativamente ($P = 0.021418$) del tratamiento con *C. laxus* en el tercer mes. En el cuarto mes, el testigo presenta diferencias estadísticas con los otros tres tratamientos ($P = 0.000868$) y en el último mes el tratamiento con *P. arundinaceum* mostró diferencias significativas ($P=0.0092471$) con respecto a los otros tres tratamientos.

En la comparación estadística entre las tres profundidades de cada uno de los tratamientos, se observa que el tratamiento con *P.arundinaceum*, no presenta diferencias en los primeros cuatro meses, pero en el quinto mes la muestras correspondientes a diez cm. de profundidad muestran diferencias significativas ($P=0.017961$) con las muestras de las otras dos profundidades.

El tratamiento con *C. laxus* no muestra diferencias entre los tratamientos durante los primeros dos meses, pero en el tercer mes se observan diferencias significativas ($P = 0.009472$) entre las muestras de diez cm. y las muestras de las otras dos profundidades.

Las muestras del tratamiento con ambas especies de plantas presenta diferencias estadísticas en el segundo mes de actividad entre las muestras de la capa superficial y las de diez cm. de profundidad ($P=0.029129$). En el sexto mes, las muestras de diez cm. muestran diferencias con respecto a las otras dos profundidades ($P=0.006373$).

En el segundo mes, el testigo presentó diferencias estadísticas entre las muestras de diez cm. con respecto a las otras dos profundidades ($P = 0.021418$) y en el quinto y sexto mes las muestras de la capa superficial de suelo difieren significativamente de las muestras de diez cm. de profundidad. ($P = 0.018177$ y $P = 0.036188$, respectivamente).

9.6. Interacción de la materia orgánica con la variación en la concentración de hidrocarburos.

Consideraciones estadísticas

El número de muestras mensuales de la variable HTP fue de nueve, mientras que la materia orgánica fue de seis, a los cuales se aplicó las pruebas de normalidad e igualdad de varianza, para verificar que se cumplieran los supuestos de las pruebas.

Para medir el grado de interacción entre la cantidad de materia orgánica (M O.) presente en las muestras del suelo y la concentración de HTP en cada uno de los meses, se utilizó la prueba de Correlación simple ($\alpha=0.05$). Los resultados de las

correlaciones se presentan de manera individual para cada uno de los tratamientos y por cada uno de los seis meses del periodo experimental.

- **Tratamiento sin plantas.**

En la figura 9.18, se muestran las graficas correspondientes a las correlaciones entre la materia orgánica y la concentración de hidrocarburos en las muestras del tratamiento sin plantas.

En el primer mes de experimentación (Fig. 9.18.A) se observa una correlación lineal positiva entre la cantidad de materia orgánica presente en las muestras de suelo y la variación en la concentración de HTP, con una $r = 0.677424$ ($P=0.044987$). Esta correlación describe un claro aumento en la cantidad de hidrocarburos conforme se incrementa la presencia de materia orgánica en el suelo, este comportamiento se ve claramente reflejado en la ecuación de la recta $[HTP] = 4844.21 + (2983.64) M O$.

Los meses dos y tres (Fig. 9.18.B y Fig. 9.18.C) presentan el mismo comportamiento que el mes anterior, con correlaciones lineales positivas entre la cantidad de materia orgánica y la concentración de hidrocarburos presentes en las muestras del suelo ($r = 0.928581$; $P = 0.000299$ y $r = 0.761357$; $P=0.028186$ respectivamente) con las siguientes ecuaciones: $[HTP]= -11430.38 + (4364.22) M O$ y $[HTP]=9759.29 + (3290.44) M O$.

En el mes cuatro, no se observa una correlación lineal entre la cantidad de materia orgánica y la variación en la concentración de HTP ($r = 0.430878$; $P = 0.246936$).

En los meses cinco y seis (Fig. 9.18.E y Fig. 9.18.F), se presenta un comportamiento inverso al observado en los primeros cuatro meses, la concentración de hidrocarburos presenta una correlación lineal inversa con la cantidad de materia orgánica con coeficientes $r = 0.502588$ ($P = 0.309594$) y $r=-0.769200$ ($P = 0.043756$). Los valores anteriores indican que la concentración de hidrocarburos es mayor conforme la cantidad de la materia orgánica disminuye, comportamiento que se explica mediante la ecuación $[HTP] = 135028.33+ - (3685.32) M O$, para el último mes.

Como resultado de los análisis de correlación, se observa que cuatro de los seis meses presentan una clara relación entre las dos variables, pero con un comportamiento diferencial entre los primeros tres meses y los tres finales.

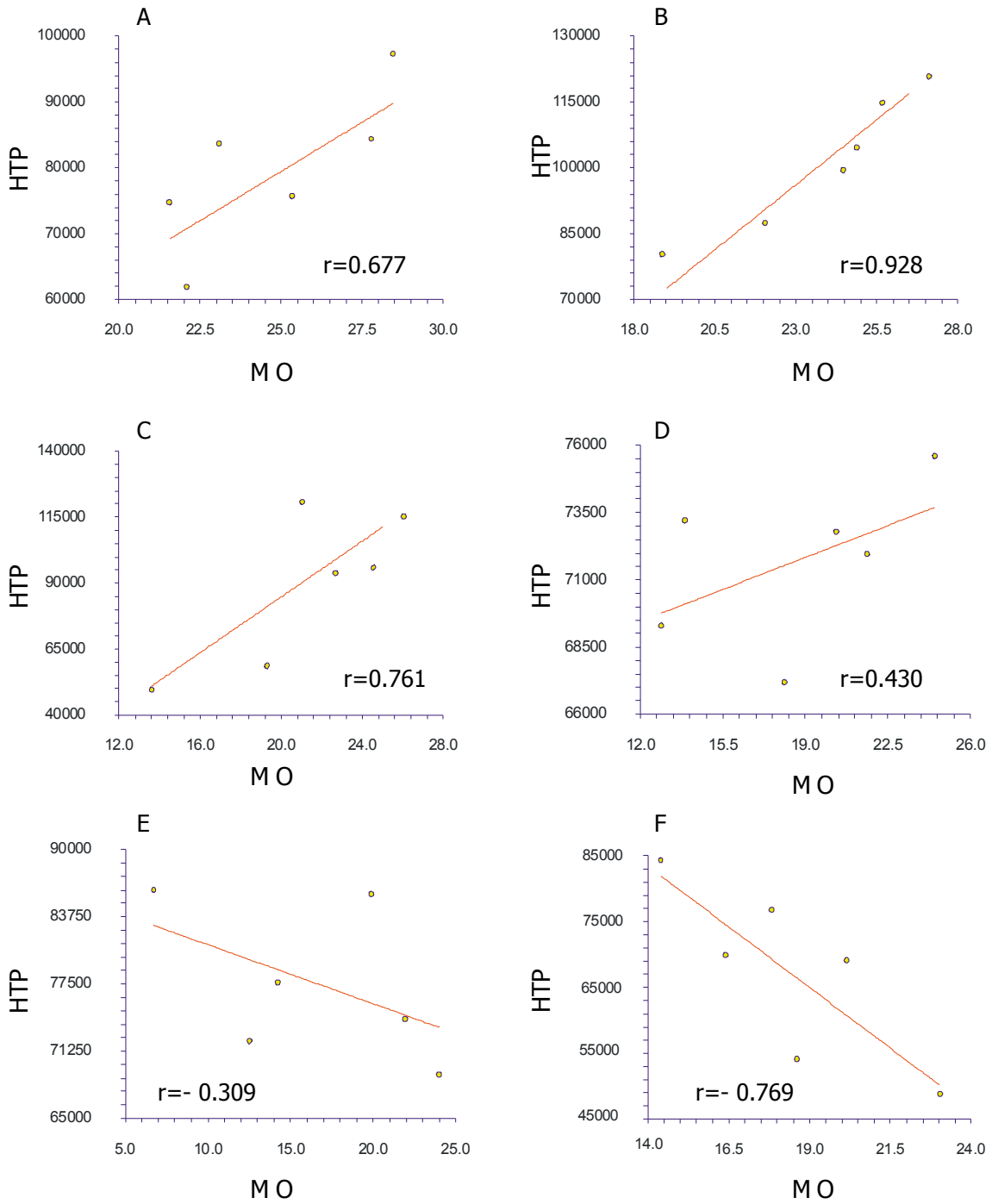


Figura 9. 18. Graficas de correlación de materia orgánica e hidrocarburos del tratamiento de suelo sin plantas: A) primer mes; B) segundo mes; C) tercer mes; D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.

- **Tratamiento con *P. arundinaceum*.**

En la figura 9.19 se presentan los diagramas de dispersión de datos correspondientes a las correlaciones entre la cantidad de materia orgánica y la concentración de hidrocarburos en las muestras de suelo mensuales con el tratamiento de *P. arundinaceum*.

Los primeros tres meses del experimento (Fig. 9.19.A, Fig. 9.19.B y Fig. 9.19.C) no presentaron ninguna correlación entre las dos variables evaluadas con coeficientes de correlación de $r = 0.250589$ ($P = 0.515469$), $r = 0.554075$ ($P=0.154152$) y $r=0.431702$ ($P = 0.245932$) respectivamente.

En el cuarto mes (Fig. 9.19.D) se presenta una correlación lineal positiva entre la cantidad de materia orgánica y la concentración de HTP con una $r= 0.906350$ ($P=0.000754$) y la ecuación que describe la relación es $[HTP]= 48476.6429 + (5086.1145) M O$.

El último bimestre (Fig. 9.19.E y Fig. 9.19F) no presenta ninguna correlación entre las variables antes mencionadas ($r = 0.170409$; $P = 0.714887$ y $r=0.010209$; $P=0.979204$).

- **Tratamiento con *C. laxus*.**

La figura 9.20 presenta los diagramas de dispersión de datos correspondientes a las correlaciones mensuales entre la cantidad de materia orgánica y la concentración de hidrocarburos en las muestras del tratamiento con *C. laxus*.

En el caso del tratamiento con la especie *C. laxus* no se observó ninguna correlación entre los datos de materia orgánica y la concentración de hidrocarburos en las muestras de suelo durante los seis meses, con coeficientes de correlación que van de $r = 0.044438$ ($P = 0.933386$) en el primer mes (Fig. 9.20.A) hasta $r=0.769113$ ($P = 0.128467$) en el último mes (Fig. 9.20.F).

- **Tratamiento con ambas especies de plantas.**

La figura 9.21 presenta los diagramas de dispersión de datos correspondientes a las correlaciones mensuales entre la cantidad de materia orgánica y la concentración de hidrocarburos en las muestras del tratamiento con ambas especies de plantas.

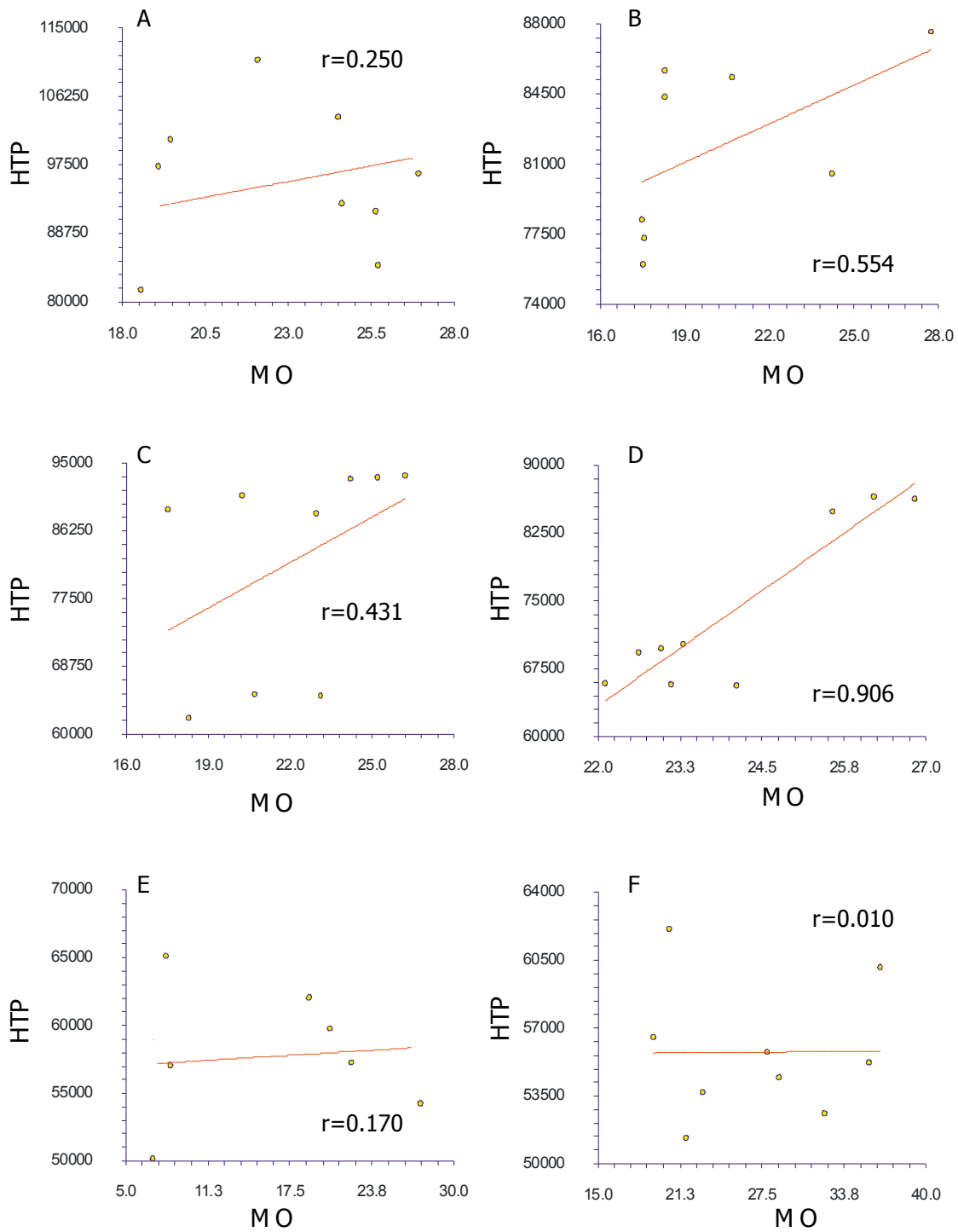


Figura 9. 19. Graficas de correlación de materia orgánica e hidrocarburos del tratamiento de suelo con *P. arundinaceum*: A) primer mes; B) segundo mes; C) tercer mes; D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.

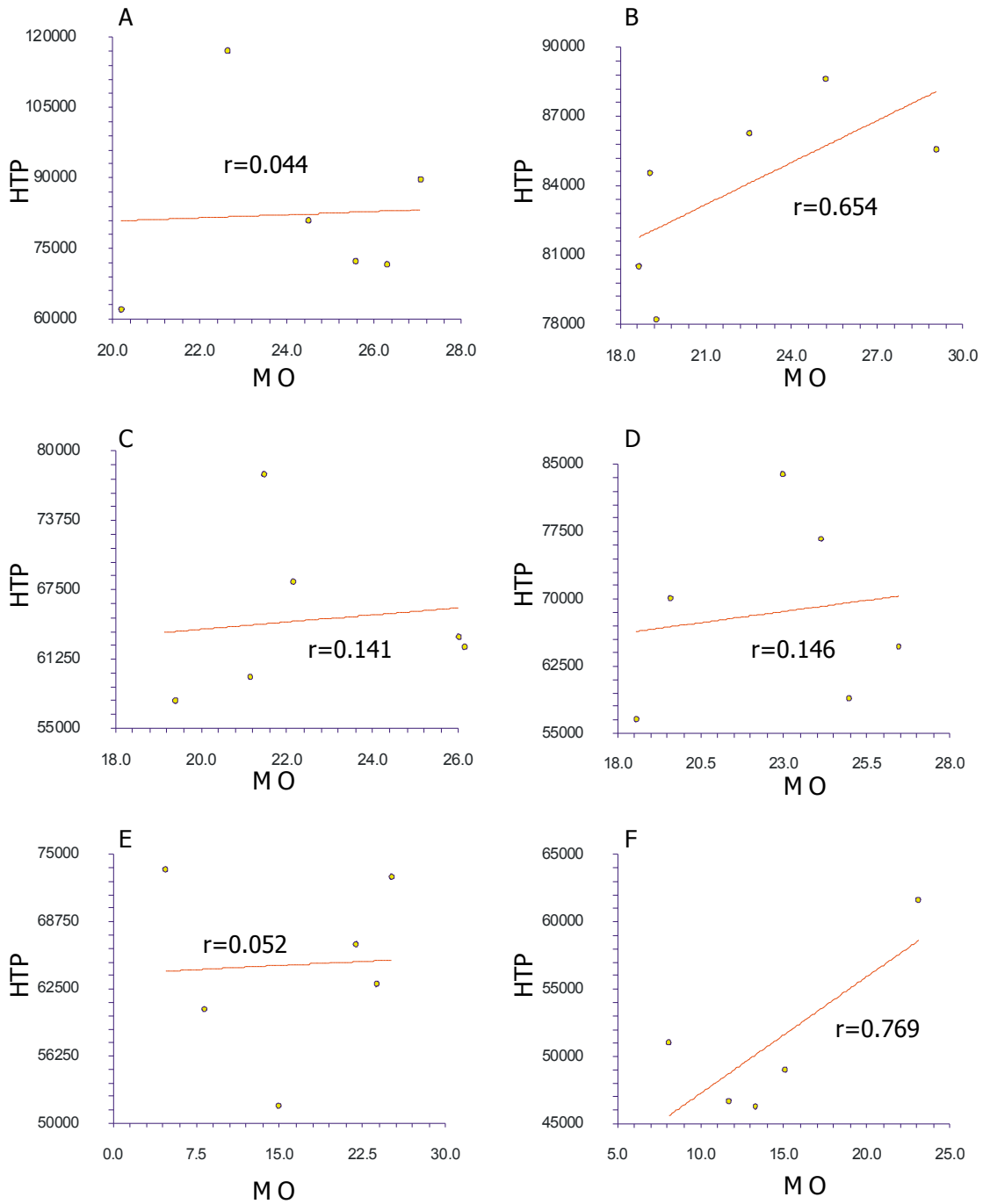


Figura 9. 20. Graficas de correlación de materia orgánica e hidrocarburos del tratamiento de suelo con *C. laxus*: A) primer mes; B) segundo mes; C) tercer mes; D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.

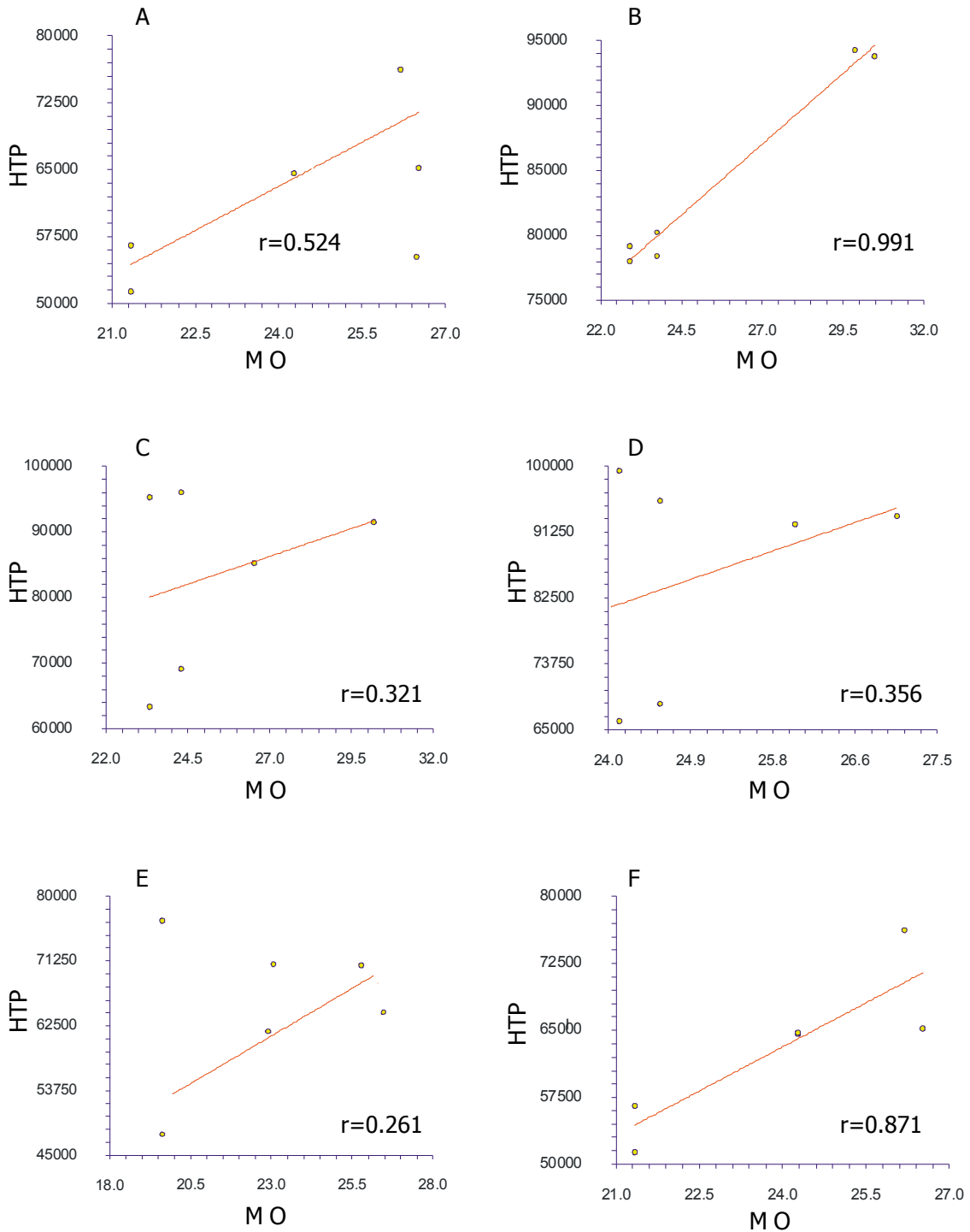


Figura 9. 21. Graficas de correlación de materia orgánica e hidrocarburos del tratamiento de suelo con ambas especies de plantas: A) primer mes; B) segundo mes; C) tercer mes; D) cuarto mes; E) quinto mes y F) sexto mes.

En el primer mes (Fig. 9.21.A) no se observa ninguna relación entre la cantidad de materia orgánica y los HTP presentes en las muestras del suelo ($r = 0.524946$; $P = 0.284911$). Mientras que en el segundo mes (Fig. 9.21.B) la concentración de hidrocarburos aumenta conforme se encuentra una mayor cantidad de materia orgánica en el suelo ($r = 0.991687$; $P = 0.000103$) como se observa en la ecuación $[HTP] = 28190.13 + (2178.96) M O$.

Del periodo del tercero al quinto mes (Fig. 9.21.C, Fig. 9.21.D y Fig. 9.21.E), no se observa ninguna correlación entre las dos variables con coeficientes de correlación con valores de $r = 0.321684$ ($P = 0.534118$), $r = 0.356555$ ($P = 0.487833$) y $r = 0.261049$ ($P = 0.617322$) respectivamente.

El último mes (Fig. 9.21.F), sin embargo presenta una correlación lineal positiva entre la materia orgánica presente y la variación en la concentración de hidrocarburos ($r = 0.871393$; $P = 0.023746$) como se observa en la ecuación $[HTP] = -15843.45 + (3290.50) M O$.

9.7 pH del suelo

El resumen de los promedios mensuales de pH de los cuatro tratamientos (por cada una de las tres profundidades evaluadas) se muestran en la tabla 9.12. del anexo de tablas.

Consideraciones estadísticas.

El número de repeticiones para la determinación de pH fue de dos, con un total de seis para cada uno de los tratamientos por cada mes, sumando 36 muestras por cada tratamiento durante los seis meses de duración del experimento. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de normalidad (pruebas de Simetría, Kurtosis y D`Agostino Ómnibus) e igualdad de varianzas (prueba modificada de Levene), como resultado se obtuvo que los datos no guardaron los supuestos estadísticos de homocedasticidad (datos no paramétricos), por lo cual se procedió a realizar pruebas de Kruskal-Wallis, para las comparaciones entre los datos mensuales de cada tratamiento, entre los tratamientos y entre las profundidades ($\alpha = 0.05$).

Determinación de pH

En la figura 9.22 se muestran los valores promedio de pH en muestras de suelo de las tres diferentes profundidades investigadas.

El pH determinado en las muestras de suelo superficiales (Fig. 9. 22.A) presento un comportamiento similar entre los tratamientos con las especies *P. arundinaceum* y *C. laxus*, con un incremento en los promedios del primer mes, con valores de 7.46 ± 0.01 y 6.8 ± 0.42 respectivamente, en comparación con el pH inicial (6.54 ± 0.06). En el tratamiento con las dos especies de plantas, no se observa ningún cambio en el promedio (6.52 ± 0.03).

A partir del segundo mes de actividad, se presenta una tendencia similar en todos los tratamientos, con una tendencia a alcanzar valores finales de 7.57 ± 0.11 en el caso de *P. arundinaceum*, 7.62 ± 0.26 en *C. laxus*, 7.18 ± 0.08 en el tratamiento con ambas especies y 7.72 ± 0.04 en las muestras testigo. Este patrón observado en los datos, se mantuvo para el resto del tiempo de estudio, sin que revelara alguna diferencia estadística entre los promedios de cada mes, ni entre los tratamientos.

En las muestras tomadas a cinco cm. de profundidad (Fig. 9.22.B) se observa que los promedios correspondientes al primer mes en los tratamientos con plantas aumentan con respecto al valor de pH inicial (6.54 ± 0.06), siendo mayor en el caso de la especie *P. arundinaceum* con un valor de 7.46 ± 0.06 , seguido del tratamiento con *C. laxus* con 6.83 ± 0.35 y 6.75 ± 0.01 en el tratamiento con las dos especies de plantas. Del segundo al quinto mes del experimento los tratamientos con *C. laxus*, con ambas especies y testigo presenta el mismo patrón ascendente en los valores mensuales de pH, registrando un promedio final de 7.64 ± 0.01 en *C. laxus*, 7.52 ± 0.23 en el tratamiento con las dos especies de plantas y 8.14 ± 0.13 en el grupo testigo. Las muestras de las unidades experimentales con *P. arundinaceum*, presentaron una tendencia diferente, con un decremento en los promedios mensuales del segundo al cuarto mes, mostrando un valor de 7.19 ± 0.07 , pero en el quinto mes se presenta un incremento en el promedio final con 7.41 ± 0.03 . Sin embargo, estas diferencias en los promedios mensuales de pH, no presentan ninguna diferencia significativa en las comparaciones entre meses y entre los tratamientos.

Las muestras de suelo tomadas a diez cm. de profundidad (Fig. 9.22.C), presentan el mismo patrón que las otras dos profundidades, con un incremento en los promedios de pH de los tratamientos con plantas desde el primer mes (7.59 ± 0.15 en *P. arundinaceum*, 6.87 ± 0.44 en *C. laxus* y 6.76 ± 0.04 en el tratamiento con ambas especies), hasta alcanzar promedios finales de 8.35 ± 0.11 en las muestras de *P. arundinaceum*, 8.12 ± 0.37 en *C. laxus*, 7.73 ± 0.26 en tratamiento conjunto y 8.42 ± 0.04 en testigo.

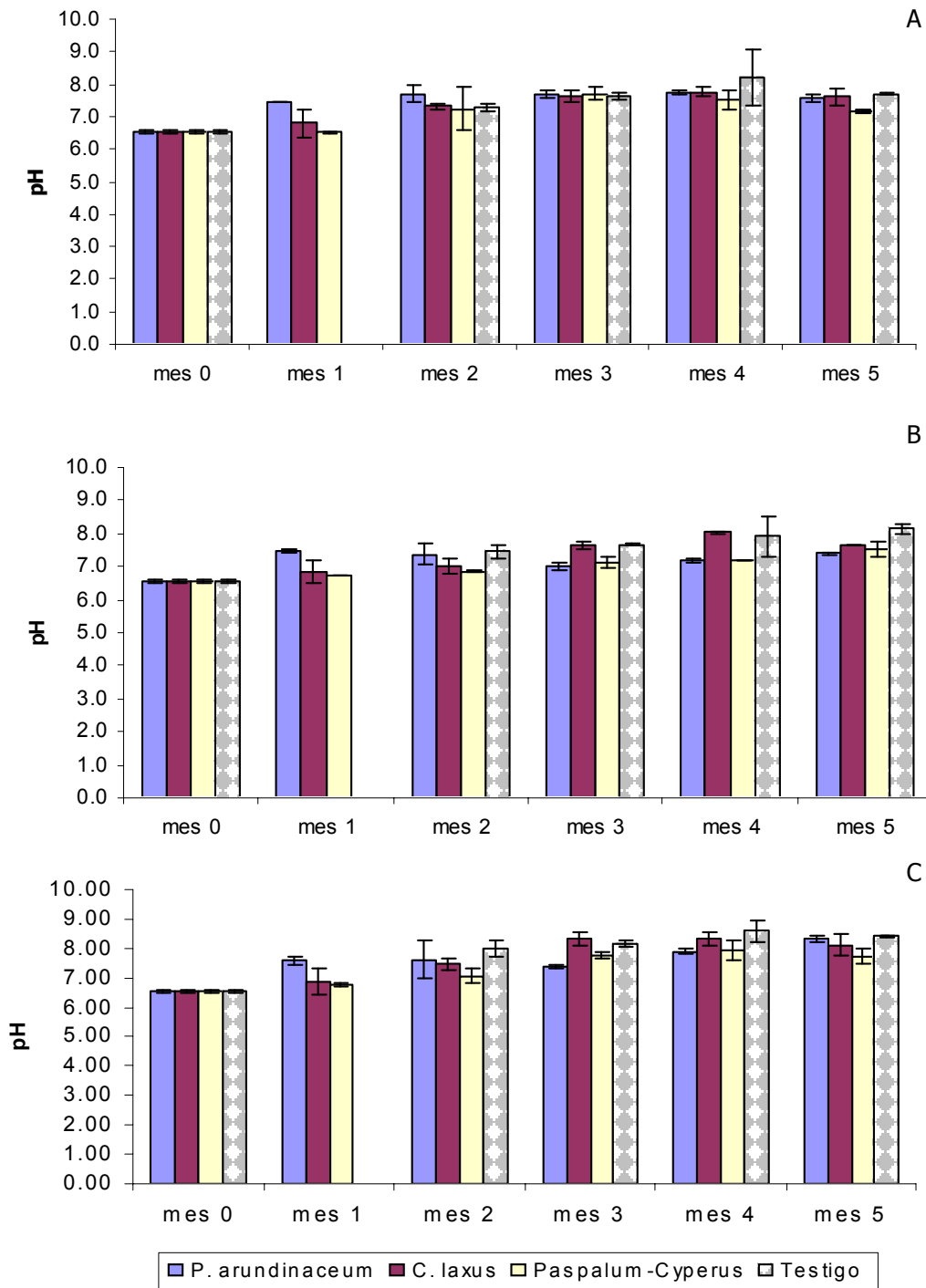


Figura 9. 22. Valores promedio de pH en diferentes tratamientos durante cinco meses: A) muestras de suelo superficiales; B) muestras de suelo de cinco cm. de profundidad y C) muestras de suelo de diez cm. de profundidad. La barra indica una desviación estándar. Sin valores correspondientes al primer mes del tratamiento Testigo.

En los análisis estadísticos comparativos entre los promedios mensuales y entre los tratamientos, no se observa ninguna diferencia significativa, pero en el análisis comparativo entre los datos de las tres profundidades se observa que el tratamiento con *P. arundinaceum* presenta diferencias desde el tercer mes entre las muestras superficiales y las de cinco cm. de profundidad ($P = 0.017436$), en el cuarto mes entre las muestras de cinco cm. y las de las otras dos profundidades ($P=0.003367$) y en el quinto mes entre la profundidad de diez cm. y las otras dos ($P=0.0033786$).

En el tratamiento con *C. laxus* se presentaron diferencias en el cuarto mes, entre las muestras superficiales y las tomadas a diez cm. de profundidad ($P = 0.008656$).

El tratamiento con ambas especies de plantas reveló diferencias entre las muestras de cinco cm. y las otras dos profundidades en el tercer mes ($P = 0.057757$), y en el cuarto se observó diferencias entre los valores de diez cm. de profundidad y los cinco cm.

Los datos del grupo testigo mostraron diferencias significativas en el tercer mes entre las muestras de diez cm. y las de las otras dos profundidades ($P= 0.071186$) y en el cuarto mes entre las muestras superficiales y las de las otras dos profundidades ($P=0.0067059$).

9.8 Determinación de número de rametos y longitud máxima de la hoja

El resumen de los promedios mensuales del número de rametos en cada especie y cada tratamiento, así como los resultados de las pruebas estadísticas de comparación se muestran en la tabla 9.13 del anexo de tablas.

Consideraciones estadísticas

Las variables de respuesta evaluadas fueron el número de rametos y la longitud máxima de la hoja. Dado que la primera de las variables es de tipo discreto, se realizó una transformación (raíz cuadrada del número de rametos) recomendada para este tipo de variables por Daniel (1989), para realizar las pruebas estadísticas: normalidad, igualdad de varianzas; como resultado de estas pruebas anteriores, se decidió realizar pruebas de comparación de medias de muestras independientes (prueba de T-student) con un $\alpha=0.05$.

En la variable de respuesta longitud máxima de hoja, se determinó la normalidad, igualdad de varianzas, para realizar pruebas de comparación de medias de muestras independientes (prueba de T-student) con un $\alpha=0.05$. La variable longitud máxima de la hoja presentó un número de muestras variables, de acuerdo con el de número de rametos que se encontró cada mes.

Los análisis comparativos se realizaron de la siguiente manera; plantas de *P. arundinaceum* del tratamiento monoespecíficos (una sola especie) contra plantas de la misma especie del tratamiento conjunto y plantas de *C. laxus* del tratamiento monoespecífico contra plantas de *C. laxus* procedentes del tratamiento con ambas especies. El resumen de los promedios mensuales de la longitud de hoja por especie y por tratamiento, así como las pruebas estadísticas de comparación se muestran en la tabla 9.14 del anexo de tablas.

9.8.1 Número de rametos.

En la figura 9.23, se presenta el número de rametos promedio de los tratamientos con plantas, en los que se observa una clara tendencia de aumento en el número de individuos. Sin embargo, en los dos primeros meses del experimento, las plantas del tratamiento monoespecífico de *P. arundinaceum* presentan un mayor número de rametos, con promedios de 29.2 ± 10.01 y 41.4 ± 15.71 respectivamente, en comparación con las plantas de *P. arundinaceum* del tratamiento conjunto, que reportan 16 ± 2 y 31 ± 1 individuos en cada uno de los meses respectivamente. De estas diferencias, solo los promedios del primer mes presentan diferencias estadísticamente significativas ($P = 0.0042239$) entre plantas de la misma especie en tratamientos diferentes.

En el segundo bimestre, las plantas de *P. arundinaceum* del tratamiento conjunto, presentan un mayor número de individuos (53.3 ± 5.51 y 42.33 ± 4.5 en cada mes) comparado con los promedios (42.6 ± 9.96 y 34.2 ± 7.79) del tratamiento monoespecífico de *P. arundinaceum*, sin que se presente alguna diferencia estadística entre tratamientos.

En el quinto mes se presenta el promedio más elevado en el número de rametos para los tratamientos, con 64 ± 7.25 en plantas del tratamiento de *P. arundinaceum* y 55.33 ± 6.66 en plantas del tratamiento en presencia de *C. laxus*. En el último mes, se presenta una reducción en el número de individuos, con promedios muy similares entre tratamientos, por ello no se presentan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos.

La especie *C. laxus*, no presenta ninguna diferencia en el número de rametos presentes en los dos primeros meses, entre el tratamiento monoespecífico y el tratamiento con las dos especies juntas.

En el tercero y cuarto mes, las plantas del tratamiento monoespecífico de *C. laxus*, presentan un promedio mayor en el número de rametos, con valores de 49.35 ± 5.24 y 39.5 ± 4.18 respectivamente, en comparación con los promedios de 35.5 ± 23.89 y 28.57 ± 19.05 en plantas de *C. laxus* del tratamiento conjunto, sin que se presenten diferencias estadísticamente significativas.

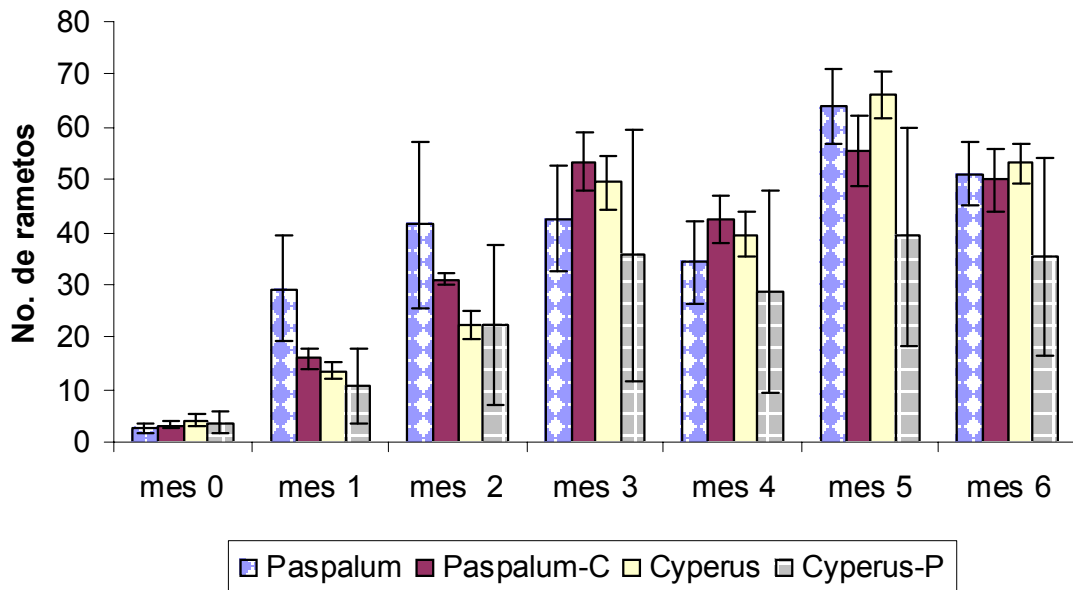


Figura 9. 23. Número de rametos promedio en plantas de diferentes tratamientos. La barra indica una desviación estándar.

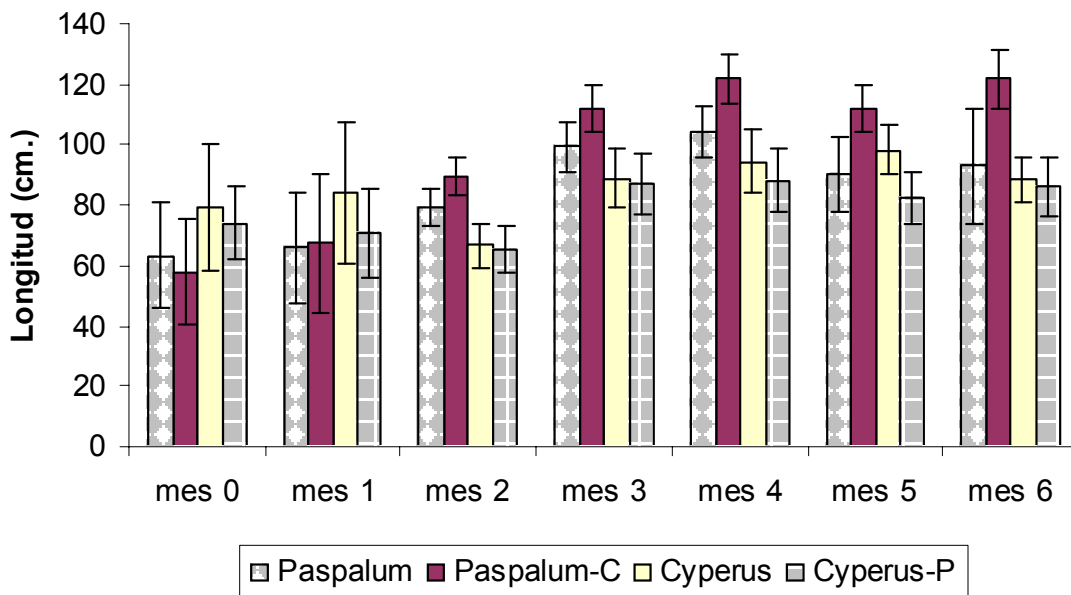


Figura 9. 24. Longitud máxima de hoja, en plantas de tratamientos monoespecificos y plantas del tratamiento con ambas especies. La barra indica una desviación estándar.

En el último bimestre, las plantas de *C. laxus* en el tratamiento sin *P. arundinaceum* mostraron un mayor número de rametos con 66.3 ± 4.46 y 53 ± 3.69 , en cada uno de los meses, en comparación con los promedios mostrados por las plantas del tratamiento conjunto, 39.2 ± 20.82 y 50 ± 6.08 , no obstante, solo el quinto mes reportó diferencias significativas entre tratamientos ($P= 0.007462$).

9.8.2. Longitud máxima de las hojas.

En la figura 9.24, se muestran los promedios de longitud de hoja de los tratamientos con plantas, en los cuales se observa una clara tendencia de crecimiento, pero con diferencias en las especies y entre tratamientos.

Las plantas de la especie *P. arundinaceum* del tratamiento con ambas especies, presentan un incremento del 12 % en la longitud de hoja desde el segundo mes de actividad, con un promedio de 89.64 ± 6.4 cm., en comparación al promedio de de las plantas del grupo monoespecífico (79.39 ± 6.49 cm.).

En el segundo bimestre, se observó un incremento constante en la longitud de hoja de *P. arundinaceum* en sus dos tratamientos, presentando sus promedios más elevados en el cuarto mes con 104.21 ± 8.51 cm. para el tratamiento monoespecífico y 121.78 ± 7.95 cm. en las plantas del tratamiento con ambas especies, que son 17 % más grandes que su contra parte.

Los datos de la longitud de la hoja del último bimestre, para *P. arundinaceum* presentan un descenso con respecto a los valores observados en el bimestre anterior, con valores finales de 93.07 ± 18.84 cm. en las plantas del tratamiento monoespecífico y en las plantas del tratamiento con las dos especies se observa el promedio más grande de todo el experimento con 122.02 ± 9.79 cm. Estas diferencias en valores, indican un incremento del 31 % en la talla de las hojas del tratamiento con ambas especies en comparación al tratamiento monoespecífico.

Las diferencias numéricas observadas en la talla de las hojas en las plantas del tratamiento conjunto y las del grupo monoespecífico de *P. arundinaceum*, se ven corroboradas en las pruebas de comparación de medias (T-student), con diferencias desde el segundo al sexto mes ($P=0.000000$).

En la especie *C. laxus* se observa que en el primer bimestre las plantas del tratamiento monoespecífico presentan una mayor talla de hoja (83.87 ± 23.59 y 79.25 ± 6.41 cm. respectivamente) con respecto a los promedios registrados en las plantas del tratamiento con ambas especies (71.01 ± 14.62 y 65.26 ± 9.56 cm., correspondientemente) que presentan una disminución de 11 y 17 % de la longitud hoja. Estos promedios muestran claras diferencias significativas ($P=0.008747$ y $P = 0.000000$, respectivamente).

En el segundo bimestre del experimento, el incremento en los promedios de la longitud de hoja se hace más evidente, alcanzando sus valores más altos en el cuarto mes, donde se observa que las plantas del tratamiento conjunto presentan un promedio 15 % menor (88.32 ± 10.02 cm.) al registrado en el tratamiento monoespecífico (103.98 ± 8.42 cm.).

Los datos del último bimestre muestran una disminución en la longitud de la hoja decremento en las plantas de ambos tratamientos, con valores finales de 98.31 ± 8 y 88.48 ± 7.21 cm. en el grupo monoespecífico y 82.33 ± 8.71 y 86.08 ± 9.64 cm. en las plantas del tratamiento con ambas especies. Sin embargo, se sigue observando una disminución en la longitud de la hoja de 16 y 3 % respectivamente. En las pruebas estadísticas, los resultados del quinto mes muestran diferencias significativas ($P = 0.000000$).

10. DISCUSION

Los datos obtenidos se discuten en el mismo orden que se presentaron los resultados.

10.1 Caracterización del suelo utilizado para evaluar el efecto de los hidrocarburos en la Biometría de ambas especies de plantas.

Como resultado de la información sobre fitorremediación generada en los últimos años, se ha observado que existen factores que limitan la aplicación de esta tecnología emergente, entre estos se destaca la importancia de conocer el tipo y la concentración del contaminante, las características climáticas y geológicas del sitio que se planea limpiar, la temperatura, la altitud, el tipo de suelo, la profundidad del manto freático y las especies de plantas seleccionadas entre otras (EPA, 2000; Macek y col, 2000).

Por ello, es importante conocer las características principales del suelo, la concentración real de HTP y su posible efecto fitotóxico en las plantas seleccionadas.

Los resultados obtenidos en la caracterización de los suelos de los objetivos particulares uno y dos, nos indican que las muestras de suelo correspondientes a las seis condiciones experimentales (suelo sin hidrocarburos, con HTP intemperizados, crudo con 20 mil, 50 mil, 80 mil y 110 mil ppm) presentan la misma caracterización textural (suelo franco-areno), con pequeños incrementos en la proporción de arenas y limos, mientras que las arcillas no representan ninguna diferencia importante entre los grupos. Estos resultados corroboran lo observado por Martínez y López (2001) en su trabajo sobre el efecto de los hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas del suelo, en el cual observan que al aumentar la concentración de gasolina y diesel se incrementa la cantidad de arenas y arcillas, dado que los hidrocarburos realizan una función de unión entre las fracciones más finas, sin que se afecte la clasificación textural de los suelos. Las diferencias observadas en las proporciones de arenas, limos y arcillas en el suelo de pantano contaminado con crudo no representan un factor importante para los objetivos del estudio.

La evaluación de pH en las muestras de los suelos, revelo una diferencia importante entre el suelo contaminado con hidrocarburos intemperizados, y los demás suelos, ya que el primero presenta un promedio de pH ácido y los segundos mostraron valores cercanos a la neutralidad. Esta característica de acidez en suelos contaminados se debe, según Semarnap (1996) a la acumulación de carbono orgánico en el suelo y la posterior formación de ácidos orgánicos por efecto de intemperismo. La variable pH, tendrá que ser considerada en la interpretación de

los resultados del grupo de plantas que se desarrollaron en el suelo contaminado con HTP intemperizados.

La determinación de la concentración real de HTP en los diferentes suelos, reveló que las muestras de suelos contaminados con crudo tipo Istmo en 50 mil y 80 mil ppm tienen valores muy similares a las cantidades esperadas, pero en las muestras de 20 mil y 110 mil ppm, las concentraciones reales superaron a las cantidades teóricas de manera significativa, aumentando con ello el grado de toxicidad de los suelos, sin que con ello represente un factor que afecte de manera importante el objetivo del experimento.

10.2 Efecto de los hidrocarburos sobre la Biometría de *C. laxus* y *P. arundinaceum*

Los resultados en la evaluación biométrica de la especie *C. laxus*, mostraron que todas las variables de respuesta presentaron indicios de efectos negativos en las plantas por presencia de los hidrocarburos (intemperizados y crudo Istmo), sin embargo las variables porcentaje de sobrevivencia, longitud máxima de hoja, longitud máxima de raíz y peso del sistema de raíces fueron mucho más sensibles a la presencia de los contaminantes que las variables distancia a la primera raíz lateral y ancho del ápice.

La tendencia general observada en las plantas que fueron colocadas en suelo con hidrocarburos intemperizados describe una disminución en los promedios de las variables de respuesta con respecto a los valores observados en las plantas del suelo sin contaminantes, no obstante, estas diferencias de valores no se ven reflejadas en los análisis estadísticos (Prueba de Kruskal-Wallis).

Con respecto a los resultados de las variables correspondientes a las plantas colocadas en suelo contaminado con crudo Istmo en sus cuatro diferentes concentraciones (20 mil, 50 mil, 80 mil y 110 mil ppm), se encontró una clara tendencia de disminución en los promedios al aumentar la concentración del contaminante, destacando que los valores correspondientes a las variables de respuesta de plantas sujetas a estrés por crudo Istmo en concentraciones de 20 mil y 50 mil ppm presentan un decrecimiento en todos sus valores, que de manera similar a lo apreciado en las plantas de HTP intemperizados, no presenta diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas del suelo sin hidrocarburos, mientras que en plantas sujetas a las concentraciones de crudo Istmo en 80 mil y 110 mil ppm se aprecia un claro efecto negativo sobre todas las variables de respuesta, estableciendo diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas del suelo sin hidrocarburos.

Las diferencias estadísticas puntualizadas con anterioridad, establecen claramente la formación de dos grupos estadísticamente diferentes entre sí, el primero

conformado por las plantas colocadas en suelo sin hidrocarburos, con hidrocarburos intemperizados y con crudo Istmo en concentraciones de 20 mil y 50 mil ppm, el segundo grupo por las plantas de suelos con 80 mil y 110 mil ppm.

Estas observaciones se pueden comparar con resultados obtenidos por los experimentos de Escalante (2000), en los cuales se evaluó el efecto ecotoxicológico de suelos contaminados con hidrocarburos en tres especies de plantas (*Zea maiz*, *Triticum aestivum* y *Cyperus laxus*), concluyendo que los hidrocarburos no afectan de manera significativa a la germinación y la talla de ambas gramíneas, pero no así a la planta nativa de los humedales, que resulto ser la más sensible a las concentraciones superiores a las 25 mil ppm. de HTP. En otro estudio comparativo con varias especies de pantano (Gómez, 2003), se aprecia que la especie *C. laxus* presenta una gran sensibilidad a la presencia de los contaminantes orgánicos.

El análisis biométrico de la especie *P. arundinaceum*, nos indica que la longitud de la hoja y la longitud de la raíz fueron las únicas variables que mostraron tendencias de daño por parte de los hidrocarburos (intemperizados y crudo Istmo), con respecto a las otras variables. Sin embargo, en los análisis estadísticos (prueba de ANDEVA) ninguna variable reporto diferencias estadísticamente validas entre los valores de las plantas sujetas a estrés por contaminantes y las plantas del suelo de pantano sin contaminar.

Los resultados de todas la variables biométricas describen a *P. arundinaceum* como una planta de constitución mas robusta que *C. laxus*, que posee una gran tolerancia a la presencia de los hidrocarburos intemperizados, así como a las cuatro diferentes concentraciones de crudo Istmo, no obstante presenta como característica una gran variación intrapoblacional (propia de la especie) que puede aportar un elemento de dificultad en la comparación de los seis tratamientos evaluados. Dado que la prueba realizada fue de corto plazo (100 días) es posible que con la aplicación de un experimento de tipo crónico las diferencias entre los tratamientos pudieran establecerse de manera más clara.

No existen estudios de dosis-respuesta con hidrocarburos que utilicen plantas de *P. arundinaceum* u otras especies de este mismo genero que puedan ser utilizados como un parámetro de comparación, sin embargo, este genero pertenece a la familia Poaceae o Gramíneae, que es el grupo de plantas más utilizado en bioensayos y experimentos de remediación de suelos contaminados con HTP y HPA. Dentro de esta familia se puede destacar la tolerancia y capacidad de remediar contaminantes por parte de especies como *Panicum mileaceum* L., *Panicum virgatum* L. y *Festuca arundinacea* Schreb. (Yen-Chin y col, 2003); *Lolium perenne* L (Binet y col, 2000; Joner y Leyval, 2003), *Echinochloa polystachya* (Rivera-Cruz y col, 2004), *Andropogon gerardii*, *Elymus canadensis*, *Agropyron*

smithii (April y Sims, 1990) entre otras, por lo cual no es una sorpresa que *P. arundinaceum* muestre esta capacidad de resistencia a los contaminantes.

La concentración de hidrocarburos intemperizados es mucho mayor que la máxima de crudo Istmo, no obstante, los promedios de las variables biométricas evaluadas en ambas especies de plantas no presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a las plantas del grupo testigo y las tendencias de reducción observadas en las variables son similares a las reportadas por los tratamientos con concentraciones de crudo inferiores a las 50,000 ppm. La respuesta observada por parte de las especies *C. laxus* y *P. arundinaceum* a la presencia de los hidrocarburos intemperizados, se pueden deber a dos posibilidades: a) que los procesos de intemperismo, cambian la composición, el comportamiento, las rutas de exposición y la toxicidad del contaminante orgánico. (Barakat, 2002) o b) que una parte los HTP no se encuentren biodisponibles debido a las posibles interacciones que tiene lugar en el suelo, como los mecanismos de sorción de los contaminantes con materia orgánica o las partículas del suelo (Ghosh y col, 2000).

Los elementos anteriores nos permiten concluir que el hidrocarburo intemperizado presenta un efecto sobre las plantas equivalente al de un suelo contaminado con petróleo fresco en rango de 20 mil a 50 mil ppm, estableciendo que no presenta efectos de toxicidad aguda en las plantas seleccionadas, aun cuando se observen tendencias de efectos negativos sobre las variables evaluadas.

10.3 Efecto de los hidrocarburos en la histoquímica de la raíz de ambas especies de plantas.

Las plantas han desarrollado una variedad de adaptaciones anatómicas y fisiológicas que les permiten un mejor crecimiento y desarrollo bajo condiciones poco favorables. Particularmente el sistema de las raíces es la parte de la planta que se ve más afectado, debido a que en muchas ocasiones se encuentra en contacto directo con suelos contaminados. Estudios recientes de Degenhardt y Gimmler (2000) demuestran que el sistema de raíces puede sufrir alteraciones en su arquitectura y estructura ocasionados por una gran variedad de condiciones estresantes como toxicidad por aluminio, altas concentraciones de CO₂, alta salinidad, resistencia mecánica del sustrato entre otros.

El análisis de los cortes histológicos de las raíces de ambas especies de plantas que fueron sujetas a estrés por hidrocarburos intemperizados durante un periodo de 100 días, revelaron claros indicios de alteraciones. En la especie *C. laxus* las alteraciones fueron observadas en las tres regiones establecidas para su revisión; Región del ápice (Rap); Región de pelos absorbentes (Rpab) y la Región de

aerenquima (Rar), mientras que en la especie *P. arundinaceum* los cambios se registraron en la Rap y la Rar.

En la zona del ápice las diferencias por efecto de los hidrocarburos se centraron en el mucílago, la cofia, la epidermis, la corteza y el cilindro vascular de la raíz.

Existen diversos tipos de mucílagos, que se encuentran en altas concentraciones en diferentes órganos de las plantas como rizomas, raíces, semillas y hojas. Los mucílagos se pueden encontrar cumpliendo funciones de reserva, como en los endospermos de semillas, como moléculas de protección contra el frío en elementos foliares, respuesta a daños mecánicos en tallos y como capa protectora de la raíz (Clifford y col, 2002).

El mucílago de la raíz realiza diferentes funciones, como proteger a las células de la cofia y de la raíz, estabilizar agregados del suelo, facilitar el establecimiento de las comunidades de microorganismos, aumentar la superficie para mejorar el fenómeno de difusión, facilitar la adquisición de nutrientes y dada la alta cantidad de grupos hidroxilo en los polisacáridos, los mucílagos tienen una alta capacidad de retener agua, lo cual le permite a ciertas especies de plantas tener un mecanismo de resistencia a la desecación (Watt y col, 1994).

Las pruebas histoquímicas con azul alciano, reacción de PAS y azul de Coomassie, demostraron que la capa de mucílago que protege a la cofia y la epidermis de la raíz de *C. laxus* y *P. arundinaceum*, se encuentra compuesta de mucopolisacáridos ácidos y/o pectinas ácidas (como el ácido D-glucourónico y ácido D-galactourónico), carbohidratos insolubles neutros y una baja proporción de proteína.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo observado por Vermeer y McCully (1982), que describen al mucílago con una composición de polisacáridos con ramificaciones de oligosacáridos neutros y una proporción de 3 a 5 % de sustancias pecticas. En otro trabajo sobre la secreción de mucílago en raíz de maíz, Basic y col. (1986) indican que el mucílago es un polisacárido complejo y se encuentran mayormente formado por seis residuos de azúcares (glucosa, galactosa, manosa, fucosa, xilosa y arabinosa) presentes en diferentes proporciones en diferentes taxa.

En el caso de la especie *P. arundinaceum*, se aprecia que existe una clara diferencia en el grosor del estrato de mucílago en las plantas tratadas con HTP intemperizados en comparación con las plantas sin hidrocarburos. Esta disminución en el grosor de la capa mucilaginoso puede asociarse a diversos procesos como: (a) interacción de algunas sustancias del contaminante que funcionen como solventes orgánicos e interactúen con la cofia y liberen componentes del mucílago al medio; (b) incremento en la biodegradación del mucílago por las comunidades

microbiológicas asociadas a la rizósfera, debido a que el contaminante realiza un efecto de selección sobre los microorganismos, así como un aumento en el número de sus poblaciones (Siciliano y col, 2001); (c) algunos de los compuestos que forman parte de los HTP intemperizados, que presentan una mayor hidrofobicidad penetren hasta las células laterales de la cofia que secretan el mucílago y alteren la secreción de los compuestos o su cantidad, como se ha demostrado en raíces de trigo que han sido expuestas a estrés por aluminio en altas concentraciones (Archambault y col, 1996) y (d) la presencia del contaminante afecta la capacidad de retención de agua, bloqueando tanto la entrada como la salida de esta en los macroporos, mesoporos y microporos del suelos (Semarnap, 1996) aumentando la posibilidad de que el agua permanezca más tiempo en contacto con la superficie de la planta y con ello la planta disminuya el grosor de la rizovaina (Watt y col, 1994)

La importancia del mucílago en presencia de contaminantes, queda fundamentada en el trabajo de Archambault y col (1996), en el cual se observa que la capa de mucílago de la raíz de trigo puede retener hasta un 65% de aluminio (Al) presente en el suelo que interactúa con la raíz y con ello disminuir la incorporación de este metal en los tejidos de la planta.

Anatómicamente la cofia puede ser dividida en varias regiones como caliptrogeno, la columnela y la cofia lateral (Foster y Gifford, 1989). La caliptra además de proteger a los meristemas contra la fricción del suelo en el crecimiento de la raíz, es el sitio de percepción de gravitropismo en las raíces y es la zona de producción y secreción de mucílago (células de la cofia lateral) (Chaffey, 1996; Blancaflor y col, 1998).

En la cofia de las dos especies en estudio, se observó una coloración parda-oscura en las células cercanas a la zona de contacto con el suelo, la cofia lateral y la columnela. El color oscuro interfirió con las tinciones de A.A., reacción de PAS, A.C. y Cl I Zn., estableciendo la posibilidad de que los sitios de reacción en las paredes de las células quedaran bloqueados por la adsorción de algún compuesto relacionado con los hidrocarburos.

La epidermis y la corteza en el área del ápice de la raíz, no muestra evidencia de cambios estructurales en la especie *C. laxus*, pero en *P. arundinaceum*, se observa una serie de posibles adsorciones y absorciones de elementos a las paredes de la epidermis y de la corteza, que de manera similar a lo observado en la cofia, impiden la reacción con las tinciones.

Los procesos de adsorción de compuestos en paredes celulares fue observado con anterioridad por Wild y Jones (1992), en un estudio de tipo bioquímico, en el cual se demuestra una clara absorción de hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) de bajo peso molecular (acenafteno, fluoreno y fenantreno) en la epidermis de la

raíz de zanahoria, debido a que estos compuestos eran más solubles en agua y por ello más susceptibles de ser adquiridos por la planta, en comparación con compuestos de alto peso molecular.

Los cortes de los jóvenes tejidos conductores de la especie *P. arundinaceum*, mostraron evidencia de una probable incorporación de elementos por efecto de los hidrocarburos intemperizados. Esta asociación de compuestos se puede originar por la falta de impermeabilización de las células de la endodermis, como se aprecia en secciones tratadas con Cl I Zn, que no presentaron una reacción positiva, lo cual indica la ausencia de compuestos de lignina y suberina (Ruzin, 1999). Así mismo, las células no mostraron efecto de birrefringencia que es causado por las capas de ceras fibrocristalinas de estas dos sustancias.

La R_{pab} en la especie *C. laxus* presenta una serie de diferencias entre los tratamientos, que comienzan con la presencia de una banda birrefringente (con microscopia de luz polarizada indica la presencia de estructuras cristalinas) en los pelos absorbentes de las plantas en presencia de HTP y que según McCully (1995), puede ser una capa mucilaginosa que facilita la obtención de iones y agua en asociación a situaciones de estrés.

Las paredes de células epidérmicas de *C. laxus* presentan una posible adsorción de sustancias, debido a la presencia de los hidrocarburos en el suelo, que disminuyen de manera considerable la reacción con la tinción de CL I Zn, aunado a la presencia de algunas estructuras cristalinas que se observaron entre células de la epidermis. En la corteza, los estratos intermedios y externos de células parenquimatosas poliedricas presentan inclusiones de materiales oscuros extra e intracelulares y en algunas raíces una serie de estructuras cristalinas.

La incorporación de contaminantes en la planta por la zona o región de pelos absorbentes, ha sido reportada con anterioridad en el trabajo de Valera de la Vega (1976) sobre el efecto del herbicida 2,6 diclorobenzonitrilo en la morfología de *Cyperus rotundus* L., trabajo en el cual se concluye que el compuesto químico penetra por los pelos absorbentes y la epidermis de la raíz de las plantas, afectando posteriormente a la estructura de las paredes de la corteza, para después penetrar en las zonas jóvenes del cilindro vascular y alterar a las células del xilema y floema. Sin embargo, en una comparación directa con lo obtenido en las plantas de *C. laxus* expuestas a hidrocarburos intemperizados, observamos que los estratos de células de la corteza más cercanos al cilindro vascular, presentan un engrosamiento en sus paredes que es birrefringente y muestra una reacción positiva con la tinción de Cl I Zn, por lo cual aumenta la probabilidad de que se trate de un incremento en la cantidad de sustancias como la suberina y cutina y que con ello se incrementa la protección a los tejidos vasculares de la planta, por lo cual no se observa evidencia alguna de daño, a diferencia de lo encontrado por Valera de la Vega (1976).

La especie *P. arundinaceum* no presenta diferencias entre tratamientos en la Rpab. La presencia de color pardo oscuro y pérdida de la reacción con las técnicas histoquímicas, diferencias observadas en la región del ápice, disminuyen o desaparecen conforme se alcanzan las zonas de diferenciación en la raíz. Las células de la Rpab se observan normales y dan positivo a las tinciones, indicando la presencia de carbohidratos como celulosas y hemicelulosas (PAS), pectinas (A A.) y en menor proporción proteínas (A C.) en las paredes, estos resultados histoquímicos corroboran lo descrito por Carpita (1996) en su trabajo de revisión sobre la composición de las paredes en diversas monocotiledoneas, en el cual se describen a la pared como una fuerte estructura de microfibrillas de celulosa entrelazadas con xiloglucanos que están embebidos en un gel de pectinas ricas en ácido urónico y con entrecruzamientos de glucoproteínas ricas en hidroxiprolina.

La presencia de tejido de aerenquima en muchas de las plantas de pantanos es una adaptación que han desarrollado para sobrevivir en suelos con condiciones anoxicas (Pierce, 1994). Según Tiner (1999) la formación de aerenquima ocurre por dos tipos de procesos: a) por una separación de las células durante el desarrollo (esquizogenia) y b) por muerte de la célula y disolución de la misma (lisogénia). Generalmente es aceptado que la formación de este tejido en las raíces es usualmente constitutiva, y no requiere estímulos externos (Drew, 1997), sin embargo, el volumen de agua presente tienen un efecto sobre la rapidez y proporciones con que se desarrolla el tejido de aerenquima en las raíces (Vaseellati y col., 2001).

C. laxus y *P. arundinaceum* son plantas que presentan aerenquima como una adaptación a las condiciones donde se desarrollan, aunque su desarrollo ontogénico ocurre por diferentes vías. En *C. laxus* se observa una clara transformación gradual de las células de la corteza por esquizogenia que da origen a las cavidades para almacenar el aire (Rodríguez y Estelita, 2002), mientras que en gramíneas del género *Paspalum* la generación del aerenquima por lisogenia es resultado de la muerte de casi la totalidad de las células de la corteza (Vaseellati y col., 2001).

Los cambios observados en las células de la corteza durante la formación del aerenquima en ambas especies de plantas, no reflejan diferencias anatómicas importantes entre las plantas sujetas a estrés por hidrocarburos intemperizados y plantas del suelo sin contaminar. Sin embargo, cuando se conjunta el desarrollo de aerenquima con el crecimiento de una raíz lateral, se presentan una serie de alteraciones asociadas al contaminante en ambas especies de plantas.

En las células de la epidermis de la raíz lateral de las dos especies, se puede apreciar una posible adsorción y/o absorción de compuestos oscuros en las paredes celulares. Mientras que en la raíz principal de ambas especies de plantas

presentan una serie de inclusiones, no obstante, la posición y naturaleza de las inclusiones es diferente para cada especie de planta. En *C. laxus* es posible ubicar estructuras cristalinas de diferentes formas y tamaños en la corteza y epidermis. Mientras que para la especie *P. arundinaceum* las inclusiones son de material oscuro y se observan en la zona comprendida entre el cilindro vascular de la raíz madre y los tejidos primarios de la raíz lateral.

La diferencia más evidente entre ambas especies de plantas, como respuesta a la presencia de los hidrocarburos en la Rar, se observo en las células de la corteza más cercanas al cilindro vascular, en donde *C. laxus* presento un engrosamiento de las paredes, con birrefringencia de forma muy similar al que se aprecia en las células de la endodermis, pero con una coloración rojo intensa que bloquea los sitios de reacción de todas las pruebas histoquímicas. Esta respuesta por parte de la cyperacea es muy similar a lo observado en plantas que se encuentran bajo estrés por factores ambientales como inundación, sequía, alta salinidad, organismos patógenos o contaminares, reaccion que implica la formación de barreras a nivel apoplastico en la raíz (Reinhart y Rost, 1995).

Schreiber y col. (1999) en su revisión sobre el papel de las barreras apoplasticas en las raíces, destacan la respuesta que ofrecen de las raíces de maíz a estrés causado por metales y salinidad, en donde se observa el incremento en la cantidad de compuestos de suberina en relación de 3:1 por la presencia de Cd y un aumento de 1:1.5 por estrés causado por NaCl. Lo cual es interpretado como una respuesta para evitar el transporte del contaminante hacia los tejidos conductores y después a la hoja. Con estos antecedentes es muy factible que los engrosamientos simultáneos en las células de la endodermis y los estratos inmediatos de la corteza de la raíz de *C. laxus*, así como su falta de respuesta a las tinciones específicas, sean una respuesta por parte de la planta a la presencia de hidrocarburos.

De manera general, se puede establecer que los resultados obtenidos en esta sección para ambas especies de plantas, difieren de manera clara con lo obtenido en la evaluación biométrica, en la cual se aprecia una ligera tendencia de efecto negativo sobre las variables de respuesta por parte de los hidrocarburos intemperizados, mientras que en el estudio histoquímico, se presenta una clara evidencia de variaciones en las raíces de las dos especies por causa de la presencia los hidrocarburos en el suelo.

Las variaciones encontradas en los tejidos de las dos especies de plantas se encuentran localizadas en las partes jóvenes de la raíz o en las áreas donde las barreras de tipo apoplastico han desaparecido. Estas diferencias revelan la disminución de mucílago en el ápice de la raíz, posible absorción y adsorción de compuestos en las paredes de la epidermis, corteza y cilindro vascular; engrosamientos en las paredes de células de corteza y endodermis con sustancias

del tipo de lignina y suberina; e inclusiones de material oscuro en forma de precipitados y estructuras cristalinas.

Con estas evidencias, es muy factible sugerir que las variaciones encontradas en las raíces expuestas a hidrocarburos intemperizados son resultado de mecanismos de resistencia por parte de las plantas para contrarrestar el efecto de determinados compuestos presentes en los HTP. Esta respuesta puede tener como consecuencia un efecto positivo en la fitorremediación de suelos contaminados por parte de estas especies de plantas.

10.4 Concentración de Hidrocarburos Totales de Petróleo

Los resultados del estudio de degradación de HTP en los cuatro tratamientos de suelo mostraron patrones de comportamiento muy similares entre sí, en los cuales se observa un incremento en la concentración de hidrocarburos en los primeros dos meses, seguido de un periodo de disminución en la cantidad de hidrocarburos, para dar paso a un nuevo incremento en el cuarto mes y en el ultimo bimestre una disminución.

Estos aumentos en las cantidades de HTP son más notorios en las muestras de suelo de los tratamientos con plantas que en las muestras de suelo en ausencia de ellas, un comportamiento similar ha sido reportado por Joner y Leyval (2003) en su evaluación del papel de la degradación de HTP, por la asociación de micorrizas arbusculares y las especies *Lolium perene* y *Trifolium repens*, trabajo en el cual se reporta un incremento en las concentraciones de HTP de 13 a 18 % después de un periodo de seis meses, asociando este fenómeno a una posible interferencia por la incorporación de materia orgánica.

La disminución en la concentración de hidrocarburos fue considerable al final del experimento para todos los tratamientos, destacando los resultados obtenidos por los tratamientos con una sola especie (monoespecificos) dentro de los cuales se observa de manera clara que el tratamiento con la especie *C. laxus* presento el mayor porcentaje de remoción de hidrocarburos con 34.98 %, seguido del tratamiento con *P. arundinaceum* con 28.75 %. Posteriormente, el tratamiento con ambas especies de plantas elimino el 20.24 % y por último el tratamiento sin cobertura vegetal con 12.98 % (valor que no presento diferencias estadísticamente significativas con respecto al valor inicial).

Los porcentajes de degradación de HTP reportados en este trabajo son similares a los reportados en el trabajo de Banks (1997) con la planta *Cynodon Dactylon*, donde se observa una degradación del 69 % de los hidrocarburos en nueve meses y una remoción de solo 4 % en muestras de suelo sin planta. Rivera de la-Cruz y col. (2003) realizaron un seguimiento de la fitorremediación de HTP por la planta

Echinochloa polytachya, reportando una degradación de 34 a 36 % de HTP en muestras de suelo después de 60 días y de 48 a 62 % después de un periodo de 120 días. En otro trabajo, Siciliano y col. (2003) compararon la eficiencia fitorremediadora de dos sistemas de tratamiento de suelos contaminados compuestos de mezclas de diferentes plantas contra un suelo sin cobertura vegetal y encontraron que en los dos sistemas con mezclas de plantas la remoción de HTP fue la misma (30 % en dos años), mientras que en el suelo sin plantas solo fue del 15 %.

Los resultados del trabajo de Banks y col. (2000) en el cual observaron que en campos experimentales de tratamiento de suelos contaminados con HTP las plantas *Lolium perenne* y *Festuca arundinacea* presentaron de 9 a 19 % mayor degradación que el suelo sin plantas, son equiparables a los valores encontrados en este estudio, que nos indican que los tratamientos con plantas mejoran la degradación de contaminantes en un rango de 7 a 22 % con respecto al suelo sin plantas.

Las diferencias reportadas en los datos de la concentración de hidrocarburos entre los tratamientos monoespecíficos y el tratamiento conjunto de especies, pueden ser originadas por una serie de factores como los procesos de competencia (competencia por espacio, nutrientes, luz, agua entre otros).

Las amplias variaciones observadas en las determinaciones mensuales de todos los tratamientos, nos indican una distribución heterogénea de los contaminantes orgánicos en el suelo. Este fenómeno se aprecia de manera puntual en la evaluación de la concentración de HTP por profundidades, en la cual se observan comportamientos diferentes entre las unidades experimentales sin plantas y las que si contienen plantas.

Las muestras de suelo de las unidades experimentales sin plantas presentan una serie de incrementos en la concentración de hidrocarburos al aumentar la profundidad, en particular después del segundo mes de actividad, manteniendo concentraciones superiores a las iniciales por el resto del experimento.

Las observaciones anteriores, pueden estar relacionadas con los procesos de adhesión y lenta liberación de los compuestos por los geosorbentes (Talley y col, 2002) y la dinámica natural de formación del suelo, que presenta migración de elementos entre los horizontes e implica cambios en la distribución y tipo de partículas presentes en el suelo.

En las unidades con plantas se observa un decremento de la concentración de hidrocarburos con el aumento de la profundidad a partir del tercer mes en el caso de la especie *C. laxus* y después del cuarto mes para el tratamiento con la especie *P. arundinaceum* y el tratamiento con ambas especies.

La disminución en la concentración de hidrocarburos en los tratamientos con plantas se puede originar por los procesos de degradación que ocurren por parte de los microorganismos asociados a la rizósfera (Schnoor y col, 1995) o por parte de los mecanismos de defensa de las plantas (Beaker, 2000).

10.5 Tamaño de partícula

Los resultados obtenidos de la determinación del tamaño de partícula, nos muestran que la cantidad de gravas en los cuatro tratamientos a diferentes profundidades, presenta un mismo patrón, el cual describe un decremento en sus porcentajes a partir del segundo mes. Esta disminución en la fracción gruesa de las muestras de suelo, puede ser ocasionado por los procesos de intemperismo (humedad, temperatura y actividad biológica entre otros) que fracturan a los conglomerados, dando origen a fracciones más pequeñas (Oades, 1993).

La cantidad de gravas presentes en las muestras de suelo de los cuatro tratamientos nos indica que la profundidad es un factor que influye en la distribución y cantidad de las mismas. Las muestras tomadas a diez cm. presentan un decremento mayor que las de las otras dos profundidades. Estas observaciones concuerdan con lo obtenido por Simanton y col. (1984) y Nettleton y col. (1989), trabajos en donde se aprecia que existe una mayor cantidad de gravas en las capas superficiales del suelo, en comparación con los horizontes inferiores.

La determinación de la fracción fina, nos muestran que las cantidades de arenas, limos gruesos y arcillas se incrementan de manera importante después del segundo mes en las tres profundidades, lo cual coincide con las disminuciones observadas en las gravas. Estos datos nos indican de manera clara que el origen de las cantidades de la fracción fina es el intemperismo de la materia mineral y orgánica que componen la fracción gruesa.

Las observaciones sugieren una dinámica de movimiento entre los diferentes tamaños de partícula del modelo experimental, estas implicaciones guardan una gran similitud con los procesos de transformación y de translocación de componentes en la formación de los suelos. Por un lado la materia gruesa se fragmenta por fenómenos de intemperismo y los materiales resultantes son transportados por agua o por organismos del suelo a capas más profundas del suelo (Brady y Weil, 1999).

En el caso de transporte de partículas de arcillas y limos finos, el proceso recibe el nombre de eluviación-iluviación de arcilla, que básicamente es un proceso en el cual el agua de las precipitaciones atmosféricas moviliza a la arcilla de los horizontes superiores, la cual al dispersarse pasa a la solución del suelo en forma

de suspensión. Por la acción de la gravedad, las suspensiones se infiltran por el suelo a través de los macroporos. Al alcanzar estas suspensiones horizontes profundos en los que el suelo se encuentra seco, el agua de las suspensiones que migran por los macroporos es succionada por los microporos de las zonas circundantes. Las paredes de los macroporos actúan como filtros, ya que las partículas de arcilla no pueden pasar a través de los microporos y son retenidas y se concentran formando delgadas películas acuosas que rodean las paredes de los macroporos. Finalmente al ser succionada la totalidad del agua del macroporo, las partículas forman unas finas películas de arcilla con sus partículas dispuestas paralelamente entre si y fuertemente retenidas (Dorransoro-Fernández, 2004).

Los incrementos en las cantidades de limos gruesos y arcillas presentan diferencias entre los tratamientos sin y con plantas. El tratamiento sin plantas presenta un mayor incremento de estos dos tamaños de partícula en comparación con las cantidades determinadas en los tratamientos con plantas. Este fenómeno se puede deber a que la distribución de las partículas presenta un reacomodo más lento en las unidades con plantas debido a que las raíces favorecen la formación de agregados y con ello disminuye la velocidad de migración en las partículas de suelo (McCully, 1999).

10.6 Interacción del tamaño de partícula y la concentración de hidrocarburos.

Las variaciones en la concentración de hidrocarburos en las muestras de suelo del tratamiento sin plantas, presentaron una alta correlación con respecto a la cantidad y distribución de los cuatro tamaños de partícula en los últimos cuatro meses del periodo de experimentación.

La determinación de los coeficientes de correlación parcial para cada uno de los tamaños de partícula, revelaron que la cantidad y distribución de la fracción gruesa no representan un factor de influencia en la distribución de los contaminantes orgánicos en el suelo. Estas observaciones coinciden con la teoría de que las fracciones gruesas se consideran sólo como parte diluyente de la fracción fina, químicamente inerte o poco reactiva, por lo cual se descartan de forma rutinaria en la mayor parte de los estudios (Poesen y Lavee, 1994).

Sin embargo, Fernández-Sanjurjo (1999), en su revisión sobre la influencia de los fragmentos gruesos en el suelo, pone de manifiesto que esta fracción no es inerte sino que ciertas propiedades físico-químicas tales como porosidad, retención de agua, contenido de carbono orgánico y de nitrógeno total y capacidad de intercambio catiónico, presentan valores que, en algunos casos, igualan o sobrepasan a los de la tierra fina. Así mismo, Berna y col. (1999) han demostrado que los fragmentos gruesos en el suelo presentan propiedades que les permite retener metales pesados, lo cual permite utilizarlos como filtros de aguas

residuales, por lo cual debe reconsiderarse la interacción con sustancias contaminantes.

En el caso de la fracción fina, las correlaciones parciales demostraron que los limos y las arcillas son las variables que más explican el comportamiento de los HTP. Estos resultados concuerdan con lo obtenido por Ghosh y col. (2000) en su trabajo de localización y asociación de HPA en partículas de sedimentos marinos, en donde reportan que la mayor cantidad de hidrocarburos se encuentra retenida en las partículas finas ($> 63 \mu\text{m}$), con una mayor participación de las partículas de origen orgánico que las de tipo mineral.

En trabajos sobre el papel de las partículas en la retención y distribución de metales, Stewar y col. (2003) encuentran que existe una alta correlación ($r=0.794$) entre la cantidad de Cr (III) y las características del suelo (pH, carbón total inorgánico, cantidad de arcillas y capacidad de intercambio catiónico).

En el caso de los tres tratamientos de suelo con plantas, no se presentó una clara correlación entre la variación en la concentración de hidrocarburos y la cantidad y distribución de los cuatro tamaños de partículas, resultado que se puede explicar mediante el papel de las raíces como estabilizadoras del suelo (McCully, 1999), aunado a la degradación de los contaminantes, como se señala en la sección de degradación de hidrocarburos.

10.7 Materia orgánica

Los datos obtenidos en la determinación de la materia orgánica en los diferentes tratamientos del suelo modelo, presentaron el mismo patrón, el cual describe una disminución gradual del porcentaje de materia orgánica en las muestras de suelo, el cual se hace evidente después de dos meses de actividad, lo cual coincide con el mes en el cual los cambios en las cantidades de los diferentes tamaños de partícula, son más evidentes.

La cantidad de materia orgánica reportó diferencias estadísticamente significativas entre las muestras de suelo de diferentes profundidades, con un mayor decremento en las muestras de mayor profundidad, con valores de 8 y 14 % en los tratamientos con plantas y de 13% en el tratamiento sin ellas, en comparación con el valor inicial del experimento (25 %). Estas cantidades son muy similares a las reportadas en suelos de zonas inundables, que van del 12 al 28 %, en los cuales el cambio de condiciones aeróbicas a anaeróbicas por la incorporación de grandes cantidades de agua durante meses, retarda la descomposición de la materia orgánica, causado su acumulación (Soil Survey Staff, 1998).

La disminución en la materia orgánica en razón de la profundidad, también se ha observado en suelos, en los cuales se presenta una disminución de materia en los horizontes E y B, como resultado de las condiciones de intemperismo y oxidación.

10.8 Interacción de la materia orgánica con la variación en la concentración de hidrocarburos.

La concentración de hidrocarburos en las muestras de suelo del tratamiento sin plantas presentó una correlación lineal positiva con la cantidad de materia orgánica presente durante los primeros tres meses del experimento, con coeficientes de correlación de $r = 0.68$, $r = 0.92$ y $r = 0.76$, mientras que en el último mes mostraron una correlación lineal negativa ($r = -0.76$).

Los resultados de los primeros tres meses corroboran el concepto de la materia orgánica como un elemento muy importante en la sorción y desorción de compuestos orgánicos en el suelo (Gunasekara y Xing, 2003) y coinciden con las observaciones de los trabajos realizados por Rockne y col. (2002) con sedimentos marinos de dos bahías diferentes, en los cuales encontraron que el 85 % de los HPA en sedimentos, se encontraban sorbidos en la fracción de baja densidad, que esta compuesta en su mayoría por materia orgánica.

Sin embargo, los resultados de los tres últimos meses mostraron un comportamiento totalmente inverso, con una nula participación por parte de la materia orgánica o una interacción contraria a la esperada. Estas tendencias pueden ser interpretadas como una respuesta a la dinámica de translocación de materiales en las unidades experimentales y una alternancia en la influencia de los geosorbentes sobre la concentración de hidrocarburos en el suelo modelo, dado que los diferentes tamaños de partículas presenta una correlación con la variación en los HTP a partir del tercer mes.

En los tratamientos con plantas, los resultados del análisis de correlación, nos indican que la materia orgánica no representa un factor que determine la concentración de los hidrocarburos, fenómeno que puede ser originado por la presencia de las raíces de las plantas, debido a la liberación de ácidos orgánicos en los exudados radicales, los hidrocarburos pueden ser desorbidos y encontrarse biodisponibles para ser degradados por la comunidad de microorganismos o por la misma planta (Yang y col, 2001).

10.9 pH

La variable de respuesta pH, cuyo objetivo primario era la determinación indirecta del volumen de influencia rizosférica, presentó un comportamiento muy homogéneo entre los diferentes tratamientos y escasas diferencias entre las muestras de suelo de las tres profundidades.

El patrón general observado en las muestras de suelo, describe una clara tendencia a incrementar el pH durante los seis meses de experimentación, partiendo de un valor cercano a la neutralidad (6.54) hasta tomar valores finales dentro del rango de 7.18 a 8.42.

Estos resultados obtenidos, contrastan de manera clara con las tendencias observadas en los trabajos de Peters y Felle (1999) en los cuales se observa una clara disminución del pH por efecto de las raíces de las plantas, creando una zona ácida que favorece la elongación de la raíz. De manera similar, Zhiang y Pang (1999) reportaron que el pH de la rizósfera difiere del determinado en el suelo sin plantas en una o dos unidades, con mayor acidez al rededor de las raíces de las plantas.

Así mismo, se sabe que en suelos contaminados por hidrocarburos, algunas de las propiedades químicas como el pH se alteran, debido a la acumulación de carbono orgánico que es un precursor para la generación de ácidos orgánicos por reacciones bioquímicas, disminuyendo el pH a valores ácidos (Semarnap, 1996).

Las diferencias observadas en el comportamiento del pH, puede ser asociadas al origen del suelo modelo, ya que dos terceras partes del mismo proceden de un suelo de composta. Dentro de los procesos de formación de una composta, se presenta un estadio termofílico en el cual la temperatura se eleva y se transforma el nitrógeno disponible del suelo en amoníaco, lo cual hace que el medio se vuelva alcalino (Rivero y Martínez, 2001). Este proceso podrían interferir con la determinación de la variable de repuesta.

10.10 Determinación de número de rametos y longitud máxima de la hoja.

Las interacciones entre plantas ocurren en comunidades naturales o cultivadas y en ambos casos constituyen un factor determinante en la estructura y dinámica de dichos ecosistemas (Tilman, 1988).

Además de las interacciones positivas entre plantas, existen los fenómenos de competencia, los cuales ocurren en dos formas, competencia por encima del sustrato y competencia por debajo del mismo. En el primero se compite por un solo recurso, la luz, mientras que en la competencia por debajo del suelo, por una variedad de recursos como el espacio, agua y nutrientes esenciales (Rubio y col., 2001).

Dado que el diseño del experimento contemplo la incorporación de nutrientes de manera constante durante los seis meses de experimentación y la cantidad de

agua tampoco fue un factor limitante, solo resta evaluar posibles efectos en la competencia por espacio y por luz.

Los datos de la evaluación del número de rametos en cada uno de los tratamientos, revelo que las plantas de la especie *P. arundinaceum* del tratamiento monoespecifico, presentaron un mayor incremento en el número de rametos en los primeros dos meses, en comparación con el incremento registrado en las plantas de tratamiento con ambas especies, sin embargo estas diferencias entre tratamientos desaparecen durante los siguientes cuatro meses, estableciendo que no existen diferencias en el número de individuos entre tratamientos.

En las plantas de la especie *C. laxus* tampoco se observaron diferencias significativas de manera constante en el número de rametos entre el tratamiento monoespecifico y el tratamiento con ambas especies.

Estos resultados nos indican que no existe evidencia de estrés en las plantas causado por una reducción en el espacio en las unidades durante los seis meses de experimentación.

Sin embargo, los resultados de la determinación de la longitud máxima de la hoja, nos muestra que existen claras diferencias en el comportamiento de las especies. En el caso de *P. arundinaceum*, las plantas del tratamiento con ambas especies presentaron un marcado incremento en la talla de las hojas, con promedios de 12 a 31 % más grandes que los observados en las hojas del tratamiento monoespecifico. En plantas de la especie *C. laxus* presento un comportamiento inverso al observado en la otra especie, con una clara disminución de 11 a 17 % en la longitud de las hojas del tratamiento conjunto en comparación con los valores registrados en el tratamiento monoespecifico.

Los resultados reportados de la longitud de hoja indican un incremento importante en la talla por parte de la especie *P. arundinaceum* en presencia de *C. laxus*, lo cual puede ser interpretado como uno de los síntomas descritos y asociados con el estrés por competencia entre plantas (Breure, 1988).

El incremento en la longitud foliar es una conducta que ha sido observada por Sterling (1996) en plantaciones de palmas aceiteras, en las cuales la cercanía de los individuos en su octavo año de vida, implica la sobre posición de las hojas en plantas de individuos adyacentes, reduciendo la cantidad de luz que reciben de forma gradual, propiciando una elongación foliar.

La determinación final para establecer fenómenos de competencia entre dos o mas especies de plantas requiere de estudios especializados , como series de Tilman, pero las observaciones anteriores nos muestran posibles indicios de competencia entre *P. arundinaceum* y *C. laxus*, lo cual tiene implicaciones en su desempeño en

el tratamiento de suelos contaminados, ya que gran parte de los recursos de la planta se dirigen a resolver el problema de falta de luz y por lo tanto, puede disminuir la capacidad de respuesta hacia los contaminantes o reducir la cantidad de exudados que libera al medio.

11. CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas con respecto a las tres hipótesis planteadas en trabajo son:

La primera Hipótesis: "Si *Cyperus laxus* y *P. arundinaceum* presentan tolerancia a suelos contaminados por hidrocarburos; entonces existirá evidencia morfológica e histoquímica de adaptaciones de resistencia en la raíz de dichas plantas"; se acepta de manera integra con base en los siguientes resultados:

- Las plantas de *C. laxus* y *P. arundinaceum* que fueron sometidas a estrés por hidrocarburos intemperizados (194 mil ppm) durante 100 días no presentaron efectos de toxicidad aguda, demostrando una clara tolerancia a estos contaminantes orgánicos.
- *P. arundinaceum* demostró ser mas resistente que *C. laxus* a los contaminantes orgánicos frescos (Crudo Istmo) en diferentes concentraciones.
- El nivel de toxicidad del suelo contaminado con hidrocarburos intemperizados fue similar al observado en la respuesta de las variables biométricas de las plantas en concentraciones entre 20 mil y 50 mil ppm de crudo fresco.
- Los análisis histoquímicos en tejidos de diversas raíces de las especies *Paspalum arundinaceum* y *Cyperus laxus*, revelaron evidencia de alteraciones por efecto de hidrocarburos intemperizados. en zonas jóvenes de la raíz (ápice, zona de pelos absorbentes) o en áreas donde las barreras de protección se pierden (zona de crecimiento de raíces laterales).
- Las diferencias histoquímicas muestran una posible incorporación de compuestos derivados de hidrocarburos, que sugiere mecanismos de resistencia por parte de las dos especies de plantas a los contaminantes orgánicos, que pueden favorecer los procesos de fitorremediación de suelos contaminados.

En la segunda de las hipótesis: "Si *Cyperus laxus* y *Paspalum arundinaceum* presentan capacidad fitorremediación de hidrocarburos; entonces una estrategia de remediación con ambas especies en suelos contaminados con hidrocarburos será más eficiente que la estrategia con dichas plantas por separado", se rechaza dadas las siguientes evidencias:

- El experimento de degradación de hidrocarburos (de seis meses de duración) demostró que el mayor porcentaje de remoción de hidrocarburos

se presento en los tratamientos de suelo con una sola especie (34 % en *C. laxus* y 28 % en *P. arundinaceum*) en comparación, con el tratamiento con ambas especies (20 %), y el suelo sin vegetación (12 %).

- Existe una dinámica en el suelo modelo del diseño experimental utilizado muy similar a la que ocurre en los procesos de formación y estabilización de suelos naturales.
- La dinámica de los procesos como intemperismo, transformación y translocación de materia (partículas y materia orgánica) están altamente correlacionados con la distribución y concentración de hidrocarburos en suelos sin cobertura vegetal, mientras que suelos con plantas, dichos procesos constituyen un menor impacto debido a la presencia de las raíces.

La última hipótesis; "Si existe una interacción ecológica positiva entre *Cyperus laxus* y *Paspalum arundinaceum* en sistema cultivado, bajo estrés por hidrocarburos; entonces la capacidad de fitorremediación de ambas plantas se vera incrementada", también se rechaza con base en los siguientes resultados:

- El numero de rametos presentes en los tratamientos de una sola especie y con ambas especies, no presento diferencias significativas; estableciendo que no existe evidencia de una posible competencia por espacio o por nutrientes.
- La determinación del largo de la hoja en los tratamientos (una sola especie con respecto al tratamiento conjunto) mostró que existe un alargamiento de la longitud foliar en ambas especies en el tratamiento conjunto; mostrando indicios de competencia por luz (efecto sombra).
- Los fenómenos de interacción que ocurren entre plantas cercanas en un sistema (natural o experimental), pueden influenciar de manera indirecta los procesos de fitorremediación.

12. RECOMENDACIONES

La experiencia obtenida al realizar esta investigación permitió llegar a una serie de planteamientos para ser considerados en futuras investigaciones, que se enlistan a continuación:

- Se requiere de un mayor conocimiento de los mecanismos fisiológicos de defensa que se encuentran en las plantas, de manera particular de los sistemas enzimáticos asociados a la pared celular y explorar la posibilidad de la liberación de enzimas oxidativas en exudados radicales.
- Desarrollar un análisis histológico comparativo entre plantas sujetas a estrés por hidrocarburos en diferentes concentraciones a lo largo de un mayor periodo de tiempo, para apreciar con mayor detalle los cambios en las estructuras celulares y postular posibles explicaciones.
- Realizar estudios de fitoremediación con un número mayor de taxa, que permita observar el efecto de la diversidad biológica en la degradación de los contaminantes, a través de sistemas experimentales que consideren una representación de asociaciones o comunidades vegetales.
- Determinar el tipo de distribución que presentan las poblaciones de plantas en campo, permitirá conocer mejor el manejo y proporciones de individuos en condiciones experimentales.
- Llevar a cabo un monitoreo de los cambios que se presentan en las variables que influyen en la distribución de los hidrocarburos en el suelo, considerando la utilización de técnicas con mayor sensibilidad a las utilizadas en esta tesis; con la técnica de la pipeta en la determinación del tamaño de partícula y un analizador de carbono en el caso de la materia orgánica.
- El desarrollo de trabajos multidisciplinarios, que consideren evaluar a los diferentes grupos de organismos que componen una comunidad de zonas inundables y el papel que desempeñan en la degradación de contaminantes orgánicos, ya que esto permitirá una estimación más cercana de lo que ocurre en los ecosistemas.

13 LITERATURA CITADA.

Ackerman B. A. Las Gramíneas de México. **1991**. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. COTECOCA. Tomo III. Pág. 332.

Albers P. H. An Annotated Bibliography on Petroleum Pollution. **2001**. USGS Patuxent Wildlife Research Center, Laurel, MD. USA.

Alexander M. Introducción a la microbiología del suelo. **1980**. Editorial AGT. México DF. Pág. 491.

April W. y Sims R.C. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. **1990**. Chemosphere. 20: 253-265.

Archambault J. D., Zhang g. y Taylor J. G. Accumulation of Al in root Mucilage on Al-resistant an Al-sensitive cultivar of wheat. **1996**. Plant Physiol. 112: 1471-1478.

Arrieche I. y Pacheco Y. Determinación de carbón orgánico en muestras de suelo mediante dos procedimientos analíticos. **1992**. Revista VENESUELOS. 6: 9-13.

Atlas R. Petroleum Microbiology. **1984**. Ed. Macmillan Publishing Company. NY. 453-459.

Banks K. M., Govindaraju S. R., Schwab p. A. y Kulakow P. Chapter 3. Field Study. **2000**. In Phytoremediation of Hydrocarbon-contaminated soil. Fiorenza S., Oubre L. C. y Ward H. C. Ed. USA. Lewis Publishers. 47-80.

Banks K. M. Phytoremediation of petroleum contaminated soils: field assessment. **1997** In: Coleman, B. C., and A. Lesson Symposium Chairs). In situ and On-site bioremediation. Vol. 3. Papers from the Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium. New Orleans, USA. pp: 305-308.

Basic A., Moody S. F. y Clarke A. E. Structural analysis of secreted root slime from maize (*Zea mays* L.) **1986**. Plant Physiol. 80: 771-777.

Barakat A. O. Compositional changes of aromatic steroid hydrocarbons in natural weathered oil residues in Egyptian western desert. **2002**. Environmental forensics. 3: 219-225.

Beaker H. Phytoremediation: Using plants to clean up soils. **2000**. Agricultural Research. 4-9.

Berna F.; Corti G.; Ugolini F. C. y Agnelli A. Valutazione del ruolo dello scheletro nella ritenzione di metalli pesanti in suoli desertici coltivati della Giordania. **1999**. Resumen de Conferenza Organizativa, Inquinamento del suolo da metalli pesanti. Sassari-Cerdeña, Italia. 6-7 Mayo 1999.

Berlyn Y. y Miksche J. P. 1976. Botanical microtechnique and citochemistry. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. 326.

Bhadra R, Spanggard R, Hughes J. B. y Shanks J. V. Oxidative metabolism of 2,4,6-Trinitrotoluene in aquatic phytoremediation systems of *Myriophyllum aquaticum*. En Wetlands & Remediation. An International Conference. Eds. Means J. L. and Hinchee R. E. **1999**. BATTELLE Press. USA. 127-132.

Binet P., Portal J. M. y Leyval C. Dissipation of 3-6ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass. **2000**. Soil and Biochemistry. 32: 2011-2017.

Blancaflor B. E., Fasano M. J y Gilroy S. Mapping the funcional roles of cap cells in the response of *Arabidopsis* primary roots to gravity. **1998**. Plant Physiol. 116: 213-222.

Brady N. C. y Weil R.R. The nature and properties of soils. **1999**. Prentice Hall. Twelfth Edition. USA. Pág. 863

Breure C. J. The effect of different planting densities on yield trends in oil palm. **1988**. Expl. Agric 24:37-52

Carter R., M. Soil Sampling and Methods of analysis. **1993**. Lewis Publisher. Canada. 141-146.

Carpita N. C. Structure and biogenesis of cell walls of grasses. **1996**. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 47: 445-476.

Chacón A. R. Determinación de exudados radicales en *Cyperus laxus* Lam (CYPERACEAE); posible fitorremediadora de pantano. **2000**. Informe de Servicio Social. Lic. Biología UAM-I. Pag. 47.

Chaney R. L, Malik M, Li M. Yin, Brown L. S, Brewer P. E, Angle S. and Baker J. M. A. Pyhtoremediation of soil metals. **1997**. Current Options in Biotechnology 8:279-284.

Chaffey J. N. Structure and function of the root Cap of *Lolium temulentum* L (Poaceae): parallels with ligule. **1996**. *Annals of Botany* 78: 3-13.

Clifford S. C., Arndt S. K., Popp m. y Jones H.G. Mucilage and polysaccharides in *Ziziphus* species (Rhamnaceae): localization, composition and physiological roles during drought-stress. **2002**. *Journal of Experimental Botany*. 53 (366): 131-138.

Contreras E. F. Ecosistemas costeros mexicanos. **1993**. CONABIO Y UAM. Eds. México,DF. pp: 37-47.

Danielsson A. Rate-limiting factors during bioremediation of soil containing HOCs. - A literature study-. **2000**. Lund Institute of Technology. Pág. 25.

Díaz R., I., J. Biodegradación de hidrocarburos por consorcio microbiano de la rizósfera de una planta nativa de pantano. **2000**. Tesis de Maestría en Biotecnología. UAMI. México. Pág. 76

Degenhardt B. y Gimmler H. Cell wall adaptations to multiple environmental stresses in maize roots. **2000**. *Journal of Experimental Botany*. 51(344): 595-603.

Diego-Pérez N. Flora de Guerrero No. 5 CYPERACEAE. **1997**. Facultad de Ciencias UNAM Eds, pp: 74-76.

Dorronsoró Fernández C. Edafología. Libro electrónico. <http://www.edafologia.net/index.htm>. Última actualización: 22/2/**2004**.

Drew C. M. Oxygen deficiency and root metabolism: Injury and Acclimation under Hypoxia and Anoxia. **1997**. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:223–250.

Duineveld B., Kowalchuk A.G., Keijzer A., Van Elsas D.J. y Van Veen J. Analysis of bacteria communities in rhizosphere of *Chrysanthemum* via denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-Amplified 16S rRNA as well DNA fragments coding for 16S rRNA. **2001**. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 172-178.

EPA. Introduction to Phytoremediation. **2000**. Cincinnati USA,. Pág. 72.

Escalante E. E. Estudio de la ecotoxicidad de un suelo contaminado con hidrocarburos. **2000**. Tesis de Maestría en Biotecnología. UAM-I. Pág. 81.

Estabrook M., E. y Yoder, I., J. Plant-Plant Communications: Rhizosphere signal between parasitic Angiosperms and their host. **1998**. *Plant Physiol.* 116: 1-7.

EVSC 427-Department of Environmental Sciences. Soil Science. Laboratory Manual. **1994**. Pág. 22.

Ferrara-Cerrato R. Ecología de la raíz: Apuntes Curso precongreso. **1989**. Sociedad Mexicana de Fitopatología.

Fernández-Sanjurjo M. J. Influencia de los fragmentos gruesos en algunas propiedades físicas y químicas del suelo: antecedentes y estado actual del tema. **1999**. EDAFOLOGÍA. 6: 95-107.

Fiorenza S, Oubre C. L, y Ward C. H. Phytoremediation of Hydrocarbon-Contaminated soil. **2000**. Lewis Publishers. USA. Pág. 145.

Flora Mesoamericana: Lista anotada. **2001**. USA. <http://www.mobot.mobot.org.W3T/search/meso.html>.

Foster S. A. y Gifford Jr. M. E. comparative morphology of vascular plants. **1989**. 3ª ed., Freeman, New York, 585-594.

García MT. Ecología de las raíces. **1987**. Revista Mexicana de Fitopatología. 5: 128-136.

Gallegos M. E. M., Gómez S. A., González C. L., Montes de Oca G. M.A., Yañez T. L., Zermeño E. J.A. y Gutiérrez-Rojas M. Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum-contaminated soil in a Mexican tropical swamp. **2000**. Water Science and Technology 42: 377 -384.

Gómez S. A. análisis y selección de plantas potencialmente remediadoras de suelos contaminados. **2003** Tesis de maestría en Biología Experimental de la UAM –I. México. 38 pp.

Ghosh U., Gillette S. Luthy G. R. y Zare N. R. Microscale location, characterization, and association of polycyclic aromatic hydrocarbons on harbor sediment particles. **2000**. Environ. Sci. Technol. 34: 1729-1736.

Gunasekara S. A. y Xing B. Sorption and Desorption of Naphthalene by Soil Organic Matter: Importance of Aromatic and Aliphatic Components. **2003**. J. Environ. Qual. 32:240–246

Harris N., y Oparka K., J. Plant Cell Biology. A Practical Approach. **1994**. IRL Press. New York. USA, pp: 51-68.

Hull J. H, Jersak J. M. y Crowell M. S. Biofriendly Remediation of Impacted Wetlands. En Wetlands & Remediation. An International Conference. Eds. Means J. L. and Hinchee R. E. **1999**. BATTELLE Press. USA. 229-236.

IAEA-TECDOC-1088. Technical Options for the Remediation of Contaminated Groundwater. **1999**. International Atomic Energy Agency, USA. Pág. 129

IMP. El petróleo. **2002**. México. <http://WWW.IMP.mx/petroleo/>

Jensen W. Botanical Histochemistry. **1962**. W.H. Freeman & Co., San Francisco. 408pp.

Joner E.y Leyval C. Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils and the impact of arbuscular mycorrhiza. **2003**. Environ. Sci. Technol. 37:2371-2375.

Leon-Arteta. Comparación de métodos de análisis mecánico de suelos. **2001**. Terra. 19 (3): 219-225.

McCully E. M. Roots in soil: Unearthing the complexities of roots and their rhizospheres. **1999**. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 50: 695-718.

McCully E. M. Update on roots. How do real roots work? **1995**. Plant physiol. 1-6.

Macek T., Macková M. y Kas J. Exploitation of plants for removal organics in environmental remediation. **2000**. Bitechology Advances. 18: 23-34.

Martínez E. V. y López S. F. Efecto de los hidrocarburos en las propiedades Físicas y Químicas de suelo arcilloso. Terra 19 (1): 9-17.

Nelson D.W. y Sommers L.E. in page (**1982**) USEDA, SCS. Pág. 539

Oades J. M. The rol of Biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. **1993**. Geoderma. 56: 377-400.

Peter W. S. y Felle H. H. The correlation of profiles of surface pH and elongation growth in Maiz roots. **1999**. Plant Physiol. 121: 905-912.

Peterson RL, Farquhar M. L. Root hairs: specialized tubular cells extending root surfaces. **1996**. Bot. Rev. 62: 2-33.

Petersen W. y Botter M. Contribution of the organic acids to the rhizosphere of maize seedings. **1991**. Plant Soil 32: 159 – 163.

Pierce G. J. Adaptive modes in wetland plants. **1994**. Pierce Cedar Creek Institute & Southern tier consulting, inc. USA. Pag. 29

Poesen J. y Lavee H. Rock fragments in top soils: significance and processes. **1994**. *Catena*, **23**(1-2), 1-28.

Pollard S. J. T., Hrudey, S., E. y Fedorak, P. M. Bioremediation of petroleum-and creosote contaminated soils: a review of constrains. **1994**. *Waste Manegment and Research*. 12: 173-194.

Reinhart D. H. y Rost T. L. Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedling roots. **1995**. *Environmental Experimental Botany*. 35: 563-574.

Rhaman M. Sorption and Transport Behaviour of Hydrophobic Organic Compounds in Soils and Sediments of Bangladesh and their Impact on Groundwater Pollution. Laboratory Investigations and Model Simulations. **2002**. Institute of Geology and Paleontology. University of Tübingen. Germany. Pág. 73.

Rivera-Cruz M. del C., Ferrera-Cerrato R., Sánchez-García P., Volke-Haller V., Fernández-Linares L. y Rodríguez-Vázquez R. Descontaminación de suelos por petróleo crudo mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán [*Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc.] **2004**. *Agrociencia* 38: 1-12.

Rivero C.Y.G. Martínez. Efecto de la incorporación de compost sobre la calidad de la materia orgánica del suelo en condiciones tropicales. **2001**. Boletín No. 4. SCCS. ISSN 1609-1876. Publicación Electronica.

Rockne J. K., Shor M. L., Young Y.L., Taghon L. G. y Kosson S. D. distributed sequestration and release of PAHs in weathered sediment: The role of sediment structure and organic carbon properties. **2002**. *Environ. Sci. Technol.* 36: 2636-2644.

Rubio G., Walk T., Ge Z., Yan X., Liao H. y Lynch P: J. Root Gravitropism and Below-ground Competition among Neighbouring Plants: A Modelling Approach. **2001**. *Annals of Botany* 88: 929-940.

Ruzin S. E. *Plant Microtechnique and Microscopy*. **1999**. Oxford University Press. New York. USA. Pág. 322.

Salisbury B. F. y Ross W. *Fisiología Vegetal*. **1994**. Ed. Iberoamericana. 175-180.

Salt D. E., Smith R. D. y Raskin I. Phytoremediation. **1998**. *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 49: 643-668.

Schreiber L., Hartmann K., Skrabs M. y Zeier J. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. **1999**. Journal of Experimental Botany. 50 (337): 1267-1280.

Schnorr J. L.; Licht L. A.; McCutcheon S. C.; Wolfe N. L. y Carreira L. H.. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. **1995** Environ. Sci. Technol. 29: 318-323.

SEMARNAP. **1996**. Los Suelos de Tabasco Restauración, Conservación y Uso. Gobierno Constitucional del Estado de Tabasco.

Shih Yang-hsin y Wu Shian-chee. Sorption Kinetics of Toluene in Humic under Two Different Levels of Relative Humidity. **2002**. J. Environ. Qual. 31:970-978.

Shwab A. P. Al-Assi A. y Banks M. K. Absorption of naphthalene on plant roots. **1998**. J. Environ. Qual. 27(1): 220-224.

Siciliano S. D., Germida J. J., Banks M. K. y Creer C. W. Changes in microbial community composition and function during a polycyclic aromatic hydrocarbon phytoremediation field trial. **2003**. Applied and Environmental microbiology. 69 (19): 483-489.

Siciliano S. D., Fortin N., Mihoc A., Wisse G., Labelle S., Beaumier D., Ouellette D., Roy R., Whyte G. L., Banks M. K., Schwab P., Lee K. y Greer W. C. Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. **2001**. Applied and Environmental Microbiology 67(6): 2469-2475.

Simanton J. R., Rawitz E. y Shirely, E. D. Effects of rock fragments on erosion of semiarid rangeland soils. In: Erosion and Productivity of Soil Containing Rock Fragments. . Nichols J. D, Brown P. L. y Grant W. J., Ed. Soil Sci. Soc. Am. Special Publ. **1984**. 13: 65-72.

Sterling F. La competencia entre palmas y el raleo de la plantación de palma aceitera. **1996**. Agronomía Costarricense. 20(1): 25-37.

Stewart A. M., Jardine M. P., Barnett O. M., Mehlhorn L. T., Hyder K. L. y McKay D. L. Influence of soil geochemical and physical properties on sorption and bioaccessibility of chromium (III). **2003**. J. Environ. Qual. 32: 129-137

Soil Survey Staff. Soil Survey Manual. **1998**. USA. Department of Agriculture. Pág. 503

Sugiura K., Ishihara, M., Shimauchi, T, y Harayama, S. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. **1997**. Environ. Sci. Technol. 31: 45-51.

Szmigielska A.N., Van Rees K., Creslinski G. y Huang P. M. Low molecular weight dicarboxylic acids in rhizosphere soil of Durum Wheat. **1996**. J. Agric. Food Chem. 44: 1036 – 1040.

Talley W. J., Ghosh U., Tucker G. S. y Luthy G. R. Particle-scale understanding of the bioavailability of PAHs in sediment. **2002**. Environ. Sci. Technol. 36: 477-483.

Tilman D. Plant strategies and dynamics and structure of plant communities. **1988**. Princeton University Press.

Tinner R. W. Wetland indicators. A guide to wetland identification, delineation, classification and mapping. **1999**. Lewis Publishers. USA. Pág. 381

USEPA. Test Methods for evaluating solid waste. Tethod SW-846. **1995**.

Valera de la Vega A. I. Los efectos del herbicida diclorobenil (2,6-diclobenzonitrilo) sobre la morfología de los ápices del vástago y las puntas de las raíces de corocillo (*Cyperus rotundus* L.) **1976**. Rev. Fac. Agron. (Maracay) 133-164.

Vasellati V., Oesterheld M., Medan D. y Loreti J. Effects of flooding and drought on the anatomy of *Paspalum dilatatum*. **2001**. Annals of Botany. 88: 1-6.

Villareal M. y Vargas W. Evaluación de dos herbicidas y dos formas de aplicación para el control de zacaton (*Paspalum virgatum*) en potreros. **1989**. Agronomía Costarricense 13(2): 183-188.

Vermeer J, y McCully M. E. The rizhosphere in Zea: new insight in to structure and developmet. **1982**. Planta. 156: 45-61.

Watt M., McCully E. M. y Canny J. M. Formation and stabilization of rhizosheaths of *Zea mays* L. **1994**. Plant Physiol. 106: 179-186.

Wild S. R. y Jones C. K. Organic chemical in the environment. Polynuclear aromatic hydrocarbon uptake by carrots grown in sludge-amended soil. **1992**. J. Environ. Qual. 21: 217-225.

Yang Y., Ratte D., Smets B.F., Pignatello J. J. y Grasso D. Mobilization of soil organic matter by complexing agents and implications for polyaromatic hydrocarbon desorption. **2001**. Chemosphere 43: 1013-1021.

Yen-Chin C., Banks M. K. y Schwab A. P. Pyrene degradation in the rhizosphere of tall fescue (*Festuca arundinacea*) and Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) 2003. *Environ. Sci. Technol.* 37: 5778-5782.

Zhang T. C. y Pang H. Applications of microelectrode techniques to measure pH potential and oxide-reduction potential in rhizosphere soil. **1999**. *Environ. Sci. Technol.* 33: 1293-1299.

ANEXO DE TABLAS

Tabla 9. 1. Concentración de HTP de los suelos.			
Suelo	HTP (ppm)	Desviación Estándar	Coeficiente de variación
Suelo sin HTP	11.6	2.7	23.27
Suelo intemperizado	193,866	4840	2.496
Crudo Istmo 20,000 ppm	23,366 a	1921	8.224
Crudo Istmo 50,000 ppm	54,200	4975	9.180
Crudo Istmo 80,000 ppm	82,766	1847	2.232
Crudo Istmo 110,000 ppm	118,333 a	5644	4.770
n = 3.			
Valores con diferencias significativas con respecto a la concentración teórica (a)			

Tabla 9. 2. Caracterización de suelos.					
Suelo	pH	Textura	Arenas	Limos	Arcillas
Suelo sin http	7.22 ± 0.03	Franco-arenosa	87 ± 2.97	8.72 ± 3.82	4.28 ± 2.2
Suelo intemperizado	3.53 ± 0.1 a	Franco-arenosa	81 ± 7.92	11.12 ± 2.69	7.2 ± 0.42
Crudo Istmo 20,000 ppm	6.54 ± 0.08	Franco-arenosa	84.7 ± 6.51	10.22 ± 3.79	5.08 ± 3.8
Crudo Istmo 50,000 ppm	7.09 ± 0.01	Franco-arenosa	89.3 ± 3.82	7.14 ± 1.77	3.56 ± 2.4
Crudo Istmo 80,000 ppm	7.01 ± 0.91	Franco-arenosa	87.8 ± 1.41	7.51 ± 2.67	4.68 ± 1.3
Crudo Istmo 110,000 ppm	7.32 ± 0.27	Franco-arenosa	85.5 ± 9.19	9.32 ± 1.39	5.16 ± 1.5
n = 2					
Valores con diferencias significativas con respecto al suelo sin HTP (a)					

Tabla 9. 3. Promedios de variables morfométricas de <i>C. laxus</i> .					
Tratamiento	Longitud máxima de hoja Promedio \pm D.E. (cm.)	Longitud máxima de raíz Promedio \pm D.E. (cm.)	Peso del sistema de raíces. Promedio \pm D.E. (gr.)	Ancho del ápice Promedio \pm D.E. (mm.)	Distancia a la raíz lateral Promedio \pm D.E. (cm.)
Suelo sin HTP	(n= 8) 18.14 \pm 8.54	(n= 8) 12.80 \pm 4.8	(n= 8) 0.25 + 0.06	(n= 41) 0.56 \pm 0.06	(n= 29) 2.56 \pm 0.11
HTP intemperizados	(n= 9) 10.32 + 3.78	(n= 9) 7.10 \pm 1.52	(n= 9) 0.14 + 0.04	(n= 62) 0.52 \pm 0.04	(n= 37) 1.9 \pm 0.49
Crudo Istmo 20,000 ppm	(n= 8) 7.93 + 1.11	(n= 8) 7.97 \pm 2.32	(n= 8) 0.18 + 0.06	(n= 40) 0.45 \pm 0.05	(n= 32) 1.97 \pm 0.61
Crudo Istmo 50,000 ppm	(n= 7) 7.03 + 1.46	(n= 7) 8.10 \pm 3.47	(n= 7) 0.14 + 0.01	(n= 49) 0.43 \pm 0.04	(n= 38) 1.87 \pm 0.129
Crudo Istmo 80,000 ppm	(n= 3) 2.87 + 1.07 a	(n= 3) 3.53 \pm 0.25 a	(n= 3) 0.06 + 0.01 a	(n= 33) 0.35 \pm 0.06 a	(n= 25) 1.4 \pm 0.17 a
Crudo Istmo 110,000 ppm	(n= 1) 4.80 + nd	(n= 1) 4.30 \pm nd	(n= 1) 0.03 + nd	(n= 7) 0.47 \pm 0.06	(n= 3) 1.1 \pm 0.21 a
(n) = Número de muestras, (nd) = Sin desviación estándar Promedios diferentes al los obtenidos en suelo sin HTP a					

Tabla 9. 4. Promedio de variables morfométricas de <i>P. arundinaceum</i> .					
Tratamiento	Longitud máxima de hoja Promedio \pm D.E. (cm.)	Longitud máxima de raíz Promedio \pm D.E. (cm.)	Peso del sistema de raíces Promedio \pm D.E. (g.)	Ancho del ápice Promedio \pm D.E. (mm.)	Distancia a la raíz lateral Promedio \pm D.E. (cm.)
Testigo	(n= 8) 23.86 \pm 10.85	(n= 8) 38.40 \pm 17.26	(n= 8) 13.63 \pm 1.42	(n= 78) 1.02 \pm 0.24	(n= 59) 6.33 \pm 0.42
HTP intemperizados	(n= 10) 28.40 \pm 8.48	(n= 10) 21.69 \pm 11.83	(n= 10) 11.01 \pm 1.16	(n= 84) 0.99 \pm 0.24	(n= 66) 5.51 \pm 0.17
Crudo Istmo 20,000 ppm	(n= 10) 35.26 \pm 8.2	(n= 10) 32.12 \pm 1.55	(n= 10) 12.58 \pm 1.06	(n= 91) 0.872 \pm 0.06	(n= 45) 5.69 \pm 0.43
Crudo Istmo 50,000 ppm	(n= 9) 28.86 \pm 9.72	(n= 9) 25.10 \pm 7.37	(n= 9) 12.07 \pm 2.42	(n= 70) 0.99 \pm 0.12	(n= 30) 5.82 \pm 0.25
Crudo Istmo 80,000 ppm	(n= 8) 28.50 \pm 5.66	(n= 8) 20.62 \pm 8.85	(n= 8) 12.52 \pm 2.6	(n= 83) 0.98 \pm 0.17	(n= 51) 5.96 \pm 0.27
Crudo Istmo 110,000 ppm	(n= 9) 16.64 \pm 9.8	(n= 9) 20.55 \pm 8.62	(n= 9) 10.12 \pm 3.74	(n= 73) 0.95 \pm 0.19	(n= 48) 5.77 \pm 0.55
(n) = Número de muestras					

Tabla 9. 5. Promedio mensuales de las concentraciones de HTP en los cuatro tratamientos.

Mes	Testigo Promedio \pm D. E. (ppm)	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (ppm)	C. laxus Promedio \pm D. E. (ppm)	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (ppm)
mes 0	78266.67 \pm 4061.20	78266.67 \pm 4061.20 a	78266.67 \pm 4061.20 a	78266.67 \pm 4061.20
mes 1	80077.78 \pm 10215.77	97433.33 \pm 11448.83 b	88600 \pm 20693.48 b, c	94285.71 \pm 21063.67 a
mes 2	95122.22 \pm 18985.56 a	82376.67 \pm 4395.23 a	84799.67 \pm 4280.14 c	84482.13 \pm 7751.82 a
mes 3	75420.25 \pm 27158.90	80902.25 \pm 14045.84 a, II	63880.88 \pm 6498 d, I	82751.25 \pm 12289.82 a, II
mes 4	73442.22 \pm 3748.23	74056.33 \pm 9859.74 c	68483.33 \pm 8853.88 I	85656.83 \pm 14876.27 a, II
mes 5	78025.56 \pm 6562.29 I	55703.33 \pm 6489.01 d, II	64595.56 \pm 6634.06 d, II	61440 \pm 10210.55 b, II
mes 6	68497 \pm 14502.31 b, I	55763.56 \pm 3462.66 d, II	50890.33 \pm 4927.88 e, II	62425.89 \pm 7379.28 b II, III

Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí en la comparación entre meses.
 Números romanos representa grupos diferentes en la comparación entre tratamientos.

Tabla 9. 6. Promedios mensuales de las concentraciones de HTP por tratamiento en las tres profundidades analizadas.

Muestras superficiales				
Mes	Testigo Promedio ± D. E.	P. arundinaceum Promedio ± D. E.	C. laxus Promedio ± D. E.	Paspalum-Cyperus Promedio ± D. E.
mes 0	78266.67 ± 4061.2 a	78266.67 ± 4061.2 a	78266.67 ± 4061.2 a	78266.67 ± 4061.2 a
mes 1	83166.67 ± 1569.5 b	107433.33 ± 34968.75 b	92700 ± 28019.28 a	101066.67 ± 35209.71 b, α
mes 2	82560 ± 3600.17 b, I, α	84500 ± 3623.77 b, I	88633 ± 4060.01 a, α	93805.33 ± 478.5 c, II, α
mes 3	58178.67 ± 4922.7 d, I, α	93223.50 ± 11553.18 b, II, α	73408.50 ± 16974.37 III, α	87821.67 ± 3281.63 c, II, α
mes 4	75293.33 ± 3191.07 a, I	86568 ± 398.81 b, II, α	73400 ± 3300 III, α	92840 ± 28762.52 c, II, α
mes 5	71660 ± 2337.71 c, I, α	49575 ± 2946.83 c, II, α	67626.67 ± 5003.42 I	55143.33 ± 2162.78 d, II, α
mes 6	51093.33 ± 2024.36 d, I, α	57474.33 ± 2333.3 c, I	49450 ± 3653.53 b, I	69673.33 ± 5804 d, II, α
Muestras a 5 cm. de profundidad.				
Mes	Testigo Promedio ± D. E.	P. arundinaceum Promedio ± D. E.	C. laxus Promedio ± D. E.	Paspalum-Cyperus Promedio ± D. E.
mes 0	78266.67 ± 4061.2	78266.67 ± 4061.2 a	78266.67 ± 4061.2	78266.67 ± 4061.2 a
mes 1	85966.67 ± 11250.93 a	96933.33 ± 13342.54 b	95600 ± 18374.71 a	90633.33 ± 10276.35 b, β
mes 2	82673.33 ± 541.51 a, I, α	77163.33 ± 1125.36 a, II	80475 ± 2238.32 β	79699 ± 4072.66 c, β
mes 3	64251 ± 10017.31 b, I, α	89491 ± 1210.34 c, II, β	60616 ± 800.48 b, I, β	95656.50 ± 9622.55 d, II, α
mes 4	72800 ± 5600 I	69792 ± 610.94 d, I, α	70250 ± 13650 a, II, β	97375.50 ± 18034.18 d, II, α
mes 5	76298.33 ± 1800.1 I, β	59053.33 ± 2645.83 e, II, β	62536.67 ± 10976.32 b	73983.33 ± 2383.16 e, β
mes 6	70523.33 ± 1797.45 I, β	55719.33 ± 5672.92 e, II	55607.67 ± 5445.67 b, II, α	59824.33 ± 4202.37 f, β
Muestras a 10 cm. de profundidad.				
Mes	Testigo Promedio ± D. E.	P. arundinaceum Promedio ± D. E.	C. laxus Promedio ± D. E.	Paspalum-Cyperus Promedio ± D. E.
mes 0	78266.67 ± 4061.2	78266.67 ± 4061.20 a	78266.67 ± 4061.20 a	78266.67 ± 4061.20 a
mes 1	107433.33 ± 34968.75 a, I	100400 ± 30246.05 b	65866.67 ± 10542.45 a, I	88300 ± 26939.01 b, II, β
mes 2	84500 ± 3623.77 b, I, β	85466.67 ± 1010.41 c, II	85291 ± 1151.81 b, II	78347.67 ± 298.73 a, III, β
mes 3	93223.50 ± 11553.18 b, I, β	64099.33 ± 1734.42 d, II, γ	60794 ± 1000.05 c, II, β	69077.33 ± 1734.42 c, II, β
mes 4	86568 ± 398.81 c, I	65809 ± 224.86 d, β	61800 ± 2900 c, II, γ	66755 ± 2589.08 c, β
mes 5	49575 ± 2946.83 d, I, γ	58481.67 ± 8246.07 e, II, α	63623.33 ± 2995.24 c, II	55193.33 ± 7256.61 d, II, α
mes 6	57474.33 ± 2333.3 c, I, γ	54097 ± 1332.12 e, II	47613.33 ± 1237.9 d, II, β	57780 ± 6719.53 d, β

Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí en la comparación entre meses.
 Números romanos representa grupos diferentes en la comparación entre tratamientos.
 Letras griegas representan grupos diferentes en la comparación entre profundidades

Tabla 9. 7. Distribución de gravas en muestras de suelo de diferentes profundidades en diferentes tratamientos a lo largo del tiempo.				
Muestras superficiales				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E.	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	68 \pm 5.56	68 \pm 5.56 a	68 \pm 5.56	68 \pm 5.56
1	77.5 \pm 0.35 a	70 \pm 0 a	79 \pm 0.14 a	75.5 \pm 4.82
2	39.5 \pm 2.33	40.5 \pm 0.07 b	43 \pm 2.69	50.5 \pm 4.17
3	56.5 \pm 4.95	40 \pm 4.24 b	45 \pm 4.24	31 \pm 21.21
4	30.55 \pm 9.55 b	43.1 \pm 2.97 b	32.75 \pm 3.04 b	44.55 \pm 2.62 α
5	32.25 \pm 7 b	40.85 \pm 0.07 b, α	29.7 \pm 6.79 b	37.15 \pm 0.64 α
6	30 \pm 3.82 b, I, α	42.87 \pm 0.99 b, II, α	32.4 \pm 4.24 b, α	35.9 \pm 1.13
Muestras tomadas de cinco cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (n) =3	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	68 \pm 5.56 a	68 \pm 5.56 a	68 \pm 5.56 a	68 \pm 5.56 a
1	78 \pm 1.13 a	70 \pm 0.28 a	72.5 \pm 0.07 a	73.5 \pm 0.49 a
2	35.5 \pm 0.92 b	29.5 \pm 1.48 b	39.5 \pm 0.21 b	50 \pm 1.41
3	54 \pm 4.24	45.5 \pm 0.71 a	55 \pm 5.66 a	50 \pm 1.41
4	40.2 \pm 1.41 b	36 \pm 11.17	34.95 \pm 1.91 b	35.5 \pm 2.69 b
5	26.4 \pm 5.37 c	17 \pm 0.71 c, I, β	27.4 \pm 0.71 c	34.55 \pm 4.31 b, II
6	34.1 \pm 2.97 b, II, α	17.7 \pm 1.70 c, I, β	27.15 \pm 3.46 c	37.15 \pm 0.64 b, II, α
Muestras tomadas de diez cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (n) =3	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	68 \pm 5.56	68 \pm 5.56	68 \pm 5.56	68 \pm 5.56
1	78 \pm 0.14	72.5 \pm 0.07	74.5 \pm 0.49	75 \pm 0.24
2	38.5 \pm 0.49	47 \pm 1.98	49.5 \pm 3.32	41 \pm 1.56
3	42 \pm 4.24	48.5 \pm 4.95	51 \pm 12.73	35 \pm 1.41
4	35.95 \pm 3.18 II	34.4 \pm 2.26 II	34.1 \pm 3.96 II	16.6 \pm 5.37 I, β
5	25.55 \pm 4.17 II	16.65 \pm 0.21 I, β	23.43 \pm 0.66 II	21.65 \pm 4.03 II, β
6	26 \pm 0.28 β	16.65 \pm 1.20, β	23.07 \pm 0.60, β	25 \pm 4.81, β

Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí en la comparación entre meses.
Números romanos representa grupos diferentes en la comparación entre tratamientos.
Letras griegas representan grupos diferentes en la comparación entre profundidades.

Tabla 9. 8. Distribución de arenas en muestras de suelo de diferentes profundidades en diferentes tratamientos a lo largo del tiempo.				
Muestras superficiales				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E.	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	25 \pm 2.74	25 \pm 2.74 a	25 \pm 2.74 b	25 \pm 2.74
1	11 \pm 0.35 a	13.5 \pm 0 a	9 \pm 0.14 a	12.2 \pm 4.82 a
2	47.5 \pm 2.33 b	41.5 \pm 0.07 b	35.5 \pm 2.69 b	38.5 \pm 4.17 b
3	31 \pm 4.95 β	45 \pm 4.24 b, β	40.5 \pm 4.24 b	53.5 \pm 21.21 b
4	42.7 \pm 9.55 β	49 \pm 2.97 b	54.95 \pm 3.04 b, β	46.75 \pm 2.62 b, β
5	48.4 \pm 7 b	43.7 \pm 0.07 b β	59.5 \pm 6.79 b	52.15 \pm 0.64 b
6	47.95 \pm 3.82 b	46.35 \pm 0.99 b, β	51.15 \pm 4.24 b	52.45 \pm 1.13 b
Muestras tomadas de cinco cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (n) =3	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	25 \pm 2.74 b	25 \pm 2.74	25 \pm 2.74	25 \pm 2.74 b
1	12.5 \pm 0.21 a	13.5 \pm 0.42 a	10 \pm 0.57 a	12 \pm 0.40 a
2	36.5 \pm 0.21 c	51 \pm 1.13 b	35 \pm 1.13 b	32 \pm 0.71 c
3	38 \pm 4.24 c	30.5 \pm 10.61 α	33 \pm 11.31 b	30 \pm 8.49 c
4	49.8 \pm 2.40 d	49.65 \pm 14.50 b	48.4 \pm 7.78 b	53.05 \pm 2.90 d
5	51.9 \pm 6.22 d	57.9 \pm 0.71 b, α	49.2 \pm 7.35 b	52.95 \pm 2.05 d
6	50.5 \pm 5.94 d	56.6 \pm 0.71 b, α	51.85 \pm 3.75 b	52.15 \pm 0.92 d
Muestras tomadas de diez cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (n) =3	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	25 \pm 2.74 b	25 \pm 2.74	25 \pm 2.74	25 \pm 2.74 b
1	13.5 \pm 0.21 a	13 \pm 0.42 a	13 \pm 0.71 a	13.1 \pm 0.45 a
2	45.5 \pm 0.35 c	36 \pm 1.27 b	30 \pm 1.13	42 \pm 1.41 c
3	44.5 \pm 0.71 c, α	38.5 \pm 0.71 b	29 \pm 9.90	48 \pm 0 d
4	52.6 \pm 0.28 c, II α	47.6 \pm 5.09 b	37.05 \pm 0.21 I, α	57.2 \pm 1.84 d, II α
5	55.75 \pm 0.78 c, II	44.85 \pm 0.21 b, I, β	60.6 \pm 0.14 b, II	54.35 \pm 3.46 d, II
6	53.05 \pm 0.78 c	46.25 \pm 3.18 b, I, β	59.6 \pm 1.27 b, II	53.1 \pm 1.70 d

Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí en la comparación entre meses. Números romanos representa grupos diferentes en la comparación entre tratamientos. Letras griegas representan grupos diferentes en la comparación entre profundidades.

Tabla 9. 9. Distribución de limos gruesos en muestras de suelo de diferentes profundidades en diferentes tratamientos a lo largo del tiempo

Muestras superficiales				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E.	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46
1	11 \pm 0.85	12 \pm 0.71	9.5 \pm 0.64	10.8 \pm 0.73
2	7.5 \pm 0.37	12.4 \pm 0.55	12.5 \pm 0.96	8.2 \pm 0.71
3	10.255 \pm 8.85	10 \pm 3.82	10.1 \pm 4.53	9 \pm 5.80
4	20.75 \pm 5.16 I	7.45 \pm 2.76 II, α	6.45 \pm 0.49 II	5.2 \pm 0.99 II, β
5	10.25 \pm 0.07 II	8 \pm 0.28 α	8.2 \pm 0.71 II	5.9 \pm 0.71 I, β
6	11.35 \pm 1.63 I	7.9 \pm 0.57 α	8.45 \pm 0.35	7.15 \pm 1.06 II, β
Muestras tomadas de cinco cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (n) =3	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46
1	7 \pm 0.57	12 \pm 0.57	11.5 \pm 0.78	10.1 \pm 0.64
2	20.63 \pm 0.49	12.59 \pm 0.59	16.15 \pm 0.55	11.18 \pm 0.88
3	7.7 \pm 1.98	18.65 \pm 11.38	9.85 \pm 4.17	17.9 \pm 6.22
4	6.55 \pm 0.64	12 \pm 5.23 β	10.15 \pm 5.02	7.5 \pm 0
5	15.85 \pm 5.30 I	15.85 \pm 0.64 I, β	9.9 \pm 0.28	8.05 \pm 2.33 II
6	17.7 \pm 1.13 I	16.9 \pm 2.26 I, β	11.5 \pm 5.09	5.9 \pm 0.71 II, β
Muestras tomadas de diez cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (n) =3	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46	6 \pm 1.46
1	5.5 \pm 0.07	1 \pm 0.57	8.5 \pm 0.21	5 \pm 0.28
2	8.33 \pm 0.54	8.44 \pm 0.34	13.51 \pm 1.61	8.54 \pm 0.04
3	8.95 \pm 3.61	8.4 \pm 4.95	14.6 \pm 4.10	7.3 \pm 0.57
4	7.4 \pm 1.13	13.1 \pm 6.22 β	19.75 \pm 0.78	18.1 \pm 8.49 α
5	12.65 \pm 0.78 II	28.7 \pm 0.71 I, χ	11.3 \pm 3.11 II	15.8 \pm 1.41 α
6	13.65 \pm 1.91 II	29.95 \pm 3.04 I, χ	13 \pm 0.71 II	15.3 \pm 0.71 II, α

Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí en la comparación entre meses.
 Números romanos representa grupos diferentes en la comparación entre tratamientos.
 Letras griegas representan grupos diferentes en la comparación entre profundidades..

Tabla 9. 10. Distribución arcillas y limos finos en muestras de suelo de diferentes profundidades en diferentes tratamientos a lo largo del tiempo

Muestras superficiales				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E.	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	2 \pm 0.58 a	2 \pm 0.58 a	2 \pm 0.58 a	2 \pm 0.58
1	3 \pm 0 a	2.5 \pm 0.07	3.5 \pm 0.07	3 \pm 0.44
2	4 \pm 0.23 a	4.9 \pm 0.16 b	6.7 \pm 0.31 b	2.9 \pm 0.14
3	2.8 \pm 0.42 a, II	4.6 \pm 0.28 b, I	4.2 \pm 0.28	3.35 \pm 0.78 α
4	6.15 \pm 1.20 II	2.2 \pm 0.57 I, α	4.65 \pm 0.35	3.85 \pm 1.34 α
5	5.15 \pm 0.35	3.75 \pm 0.07 α	5.8 \pm 0.71 b	4.8 \pm 0.85 β
6	10.7 \pm 2.83 b, II, α	2.95 \pm 0.35 I, α	6.55 \pm 0.35 b	5.15 \pm 1.48 β
Muestras tomadas de cinco cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (n) =3	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	2 \pm 0.58	2 \pm 0.58 a	2 \pm 0.58 a	2 \pm 0.58 a
1	2.5 \pm 0.21	2.5 \pm 0.21	4 \pm 0.28	3 \pm 0.24 b
2	5.22 \pm 0.08	6.90 \pm 0.17	7.40 \pm 0.35	7.78 \pm 0.33 c
3	2.65 \pm 1.06	3.4 \pm 0.71	2.7 \pm 0.14	3.95 \pm 0.07
4	3.5 \pm 0.14	4.25 \pm 1.34	5.85 \pm 0.35	6 \pm 1.56
5	5.85 \pm 1.91	5.85 \pm 0.21 b, β	7.15 \pm 0.07	4.8 \pm 0.85 β
6	2.7 \pm 1.56 II, β	8 \pm 1.41 b, I, β	9.95 \pm 1.77 b, α	4.8 \pm 0.85 β
Muestras tomadas de diez cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D. E. (n) =3	C. laxus Promedio \pm D. E. (n) =3	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D. E. (n) =3	Testigo Promedio \pm D. E. (n) =3
0	2 \pm 0.58 a	2 \pm 0.58	2 \pm 0.58	2 \pm 0.58 a
1	2 \pm 0 a	1.1 \pm 0.99	3.5 \pm 0.07	2.2 \pm 0.35 a
2	3.26 \pm 0.05 b	3.29 \pm 0.14	5.67 \pm 0.55	5.09 \pm 0.15
3	3.25 \pm 0.21 b	3.45 \pm 0.35	3.75 \pm 1.34	5.25 \pm 1.06 β
4	4.05 \pm 1.34 II	6.45 \pm 1.48 II, β	7.55 \pm 2.05	9.45 \pm 0.49 b, I, β
5	5.95 \pm 2.05 c	8.1 \pm 0.57 χ	6.6 \pm 1.13	8.25 \pm 2.05 b, α
6	8.95 \pm 1.06 d	8.85 \pm 0.49 β	5.5 \pm 1.41 II, β	9 \pm 1.13 b, I, α

Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí en la comparación entre meses.
 Números romanos representa grupos diferentes en la comparación entre tratamientos.
 Letras griegas representan grupos diferentes en la comparación entre profundidades..

Tabla 9. 11. Promedio de materia orgánica presente en muestras de suelo de diferentes profundidades en cada tratamiento a lo largo del tiempo.				
Muestras superficiales de suelo.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D.E.(g)	C. laxis Promedio \pm D.E.(g)	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D.E.(g)	Testigo Promedio \pm D.E.(g)
0	25.73 \pm 3.66	25.73 \pm 3.66 a	25.73 \pm 3.66	25.73 \pm 3.66
1	24.83 \pm 1.23	21.42 \pm 1.73	24.62 \pm 0.71	25.43 \pm 3.32
2	24.2 \pm 5.01	22.11 \pm 4.36	30.18 \pm 0.43 β	26.05 \pm 1.49 β
3	25.5 \pm 2.95	21.89 \pm 3.79 β	27.28 \pm 0.60	24.55 \pm 1.76
4	26.21 \pm 0.88	21.86 \pm 3.22	26.53 \pm 0.76 β	23.05 \pm 2.03 β
5	26.4 \pm 0 I, β	24.46 \pm 0.96 II	26.21 \pm 0.59	18.27 \pm 8.14
6	27.86 \pm 6.12	13.34 \pm 0.04 b	26.36 \pm 0.23 β	20.82 \pm 3.14 β
Muestras de suelo tomadas a cinco cm. de profundidad				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D.E.(g)	C. laxis Promedio \pm D.E.(g)	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D.E.(g)	Testigo Promedio \pm D.E.(g)
0	25.73 \pm 3.66 a	25.73 \pm 3.66 a	25.73 \pm 3.66	25.73 \pm 3.66
1	19.17 \pm 0.86	25.785 \pm 1.82 a	23.55 \pm 2.25	25.01 \pm 4.88
2	17.56 \pm 0.06 b, II	18.95 \pm 0.42 II	23.325 \pm 0.59 I	25.77 \pm 0.69 I, β
3	21.56 \pm 0.27	18.65 \pm 1.77 β	22.66 \pm 0.48	21.5 \pm 1.12
4	22.96 \pm 0.48 a	20.76 \pm 3.11	24.29 \pm 0.37 II	19.2 \pm 1.56 I
5	20.54 \pm 1.70 β	9.8 \pm 7.21 b	21.34 \pm 2.43	18.08 \pm 5.47
6	21.68 \pm 0.90	27.7925 \pm 5.31	22.81 \pm 2.08 β	18.28 \pm 2.66
Muestras de suelo tomadas a diez cm. de profundidad.				
Mes	P. arundinaceum Promedio \pm D.E.(g)	C. laxis Promedio \pm D.E.(g)	Paspalum-Cyperus Promedio \pm D.E.(g)	Testigo Promedio \pm D.E.(g)
0	25.73 \pm 3.66 a	25.73 \pm 3.66 a	25.73 \pm 3.66 a	25.73 \pm 3.66 a
1	24.73 \pm 2.39 a	25.94 \pm 0.51 a	21.64 \pm 1.61 α	23.72 \pm 2.29
2	18.29 \pm 0.00	25.8 \pm 4.62 a	21.32 \pm 2.91	21.03 \pm 1.63 α
3	16.33 \pm 1.41	20.46 \pm 2.84 a, I, α	23.56 \pm 1.76 a	15.89 \pm 1.16 I
4	23.11 \pm 1.41 II	25.71 \pm 1.06 a, II	23.5 \pm 0.61 a, II, α	13.39 \pm 0.7 b, I, α
5	8.075 \pm 1.45 b, α	15.07 \pm 9.72 b	15 \pm 7.51 b	13.295 \pm 9.31 b
6	12.305 \pm 3.47 b, I	13.39 \pm 2.38 b, III	14.24 \pm 1.07 b, III, α	16.12 \pm 2.4 b, II, α

Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí en la comparación entre meses.
Números romanos representa grupos diferentes en la comparación entre tratamientos.
Letras griegas representan grupos diferentes en la comparación entre profundidades.

Tabla 9. 12. Promedio de pH en muestras de suelo de diferentes profundidades, para cada tratamiento a lo largo del tiempo.

Muestras superficiales de suelo				
Tiempo	P. arundinaceum	C. laxus	Paspalum-Cyperus	Testigo
Mes 0	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06
Mes 1	7.46 + 0.01	6.80 + 0.42	6.52 + 0.03	--
Mes 2	7.70 + 0.26	7.32 + 0.07	7.23 + 0.66	7.28 + 0.12
Mes 3	7.69 + 0.09	7.63 + 0.20	7.71 + 0.19	7.62 + 0.10
Mes 4	7.76 + 0.06	7.77 + 0.14	7.52 + 0.28	8.19 + 0.88
Mes 5	7.57 + 0.11	7.62 + 0.26	7.18 + 0.08	7.72 + 0.04
Muestras de suelo tomadas a cinco cm. de profundidad.				
Tiempo	P. arundinaceum	C. laxus	Paspalum-Cyperus	Testigo
Mes 0	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06
Mes 1	7.46 + 0.06	6.83 + 0.35	6.75 + 0.01	--
Mes 2	7.39 + 0.33	7.01 + 0.24	6.87 + 0.05	7.46 + 0.21
Mes 3	7.02 + 0.13	7.63 + 0.12	7.15 + 0.17	7.67 + 0.04
Mes 4	7.19 + 0.07	8.02 + 0.03	7.18 + 0.01	7.91 + 0.62
Mes 5	7.41 + 0.03	7.64 + 0.01	7.52 + 0.23	8.14 + 0.13
Muestras de suelo tomadas a diez cm. de profundidad.				
Tiempo	P. arundinaceum	C. laxus	Paspalum-Cyperus	Testigo
Mes 0	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06	6.54 + 0.06
Mes 1	7.59 + 0.15	6.87 + 0.44	6.76 + 0.04	--
Mes 2	7.62 + 0.65	7.47 + 0.18	7.07 + 0.26	7.99 + 0.26
Mes 3	7.37 + 0.07	8.35 + 0.22	7.74 + 0.11	8.15 + 0.11
Mes 4	7.90 + 0.07	8.33 + 0.24	7.91 + 0.34	8.58 + 0.37
Mes 5	8.35 + 0.11	8.12 + 0.37	7.73 + 0.26	8.42 + 0.04
Valor extraviado (--)				

Tabla 9. 13. Número de rametos promedio por especie y por tratamiento				
Mes	<i>P. arundinaceum</i>	<i>C. laxus</i>	<i>Paspalum arundinaceum</i> - <i>C. laxus</i>	<i>Cyperus laxus</i> - <i>P. arundinaceum</i>
0	2.80 ± 0.84	4.17 ± 1.17	3.33 ± 0.58	3.78 ± 2.06
1	29.20 ± 10.01 a	13.50 ± 1.64	16 ± 2.00 b	10.80 ± 7.19
2	41.40 ± 15.71	22.50 ± 2.66	31 ± 1.00	22.20 ± 15.27
3	42.60 ± 9.96	49.50 ± 5.24	53.33 ± 5.51	35.57 ± 23.89
4	34.20 ± 7.79	39.50 ± 4.18	42.33 ± 4.51	28.57 ± 19.05
5	64 ± 7.25 a	66.33 ± 4.46 c	55.33 ± 6.66 b	39.20 ± 20.82 d
6	51 ± 6.04	53 ± 3.69 c	50 ± 6.08	35.42 ± 18.80 d
Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí				

Tabla 9. 14. Promedio de longitud máxima de hoja por especie y por tratamientos				
Mes	<i>P. arundinaceum</i>	<i>C. laxus</i>	<i>Paspalum arundinaceum</i> - <i>C. laxus</i>	<i>Cyperus laxus</i> - <i>P. arundinaceum</i>
0	63.23 ± 17.61	79.46 ± 21.06	57.80 ± 17.53	74.26 ± 12.37
1	65.78 ± 18.49	83.87 ± 23.59 c	67.36 ± 23.14	71.01 ± 14.62 d
2	79.39 ± 6.49 a	66.78 ± 7.34 c	89.64 ± 6.40 b	65.21 ± 7.58 d
3	99.24 ± 8.11 a	89.04 ± 9.78 c	112.05 ± 8.00 b	86.95 ± 10.10 d
4	104.21 ± 8.51 a	94.38 ± 10.37 c	121.78 ± 7.95 b	88.25 ± 10.25 d
5	90.47 ± 12.39 a	98.31 ± 8.01 c	111.69 ± 7.73 b	82.53 ± 8.71 d
6	93.077 ± 18.84 a	88.48 ± 7.21 c	122.02 ± 9.79 b	86.08 ± 9.65 d
Las letras minúsculas representan grupos diferentes entre sí				

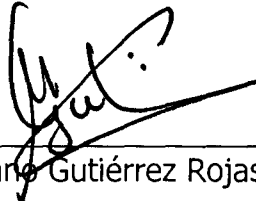
Los miembros del jurado designado por la división de Ciencias Biológicas y de La Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada "COMPARACIÓN DE LA EFICIENCIA FITORREMEDIADORA DE *Cyperus laxus* Lam. y *Paspalum arundinaceum* Poir. EN SUELOS CONTAMINADOS CON HIDROCARBUROS con fecha de 11 de noviembre del 2005 como requisito para obtener el grado de:

MAESTRO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL.



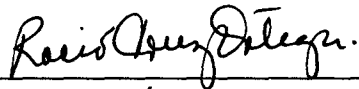
Dr. David Manuel Díaz Pontones

Presidente



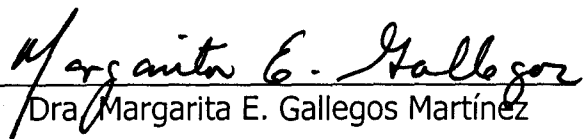
Dr. Mariano Gutiérrez Rojas

Secretario



Dra. Roció Cruz Ortega

Vocal



Dra. Margarita E. Gallegos Martínez

Vocal