

Crecimiento de Plántulas de Frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) en Dos Suelos Contaminados con Petróleo

Carmen F. Mujica Blanco¹, Jesús Rafael Méndez Natera¹, Fernando B. Pino Morales²

¹Departamento de Agronomía. Escuela de Ingeniería Agronómica y ²Escuela de Petróleo. Núcleo de Monagas. Universidad de Oriente

Avenida Universidad, Campus Los Guaritos, 6201, Maturín, estado Monagas, Venezuela

¹carmenmujica2002@yahoo.com, ²jmendezn@cantv.net

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la repuesta del cultivo de frijol en dos suelos del estado Monagas contaminados con petróleo, con la finalidad de contribuir a la recuperación de zonas agrícolas. El trabajo se realizó en la Universidad de Oriente en el Campus Juanico, bajo condiciones de invernadero. Se evaluaron dos tipos de suelo Tejero y Caripito, por estar directamente involucrados con la actividad petrolera del Estado, se usaron cajas de anime de 16 kilogramos de capacidad y se utilizo el fr jol como cultivo indicador: cada caja fue dividida en dos, en cada lado se colocó un suelo diferente pero con un mismo nivel de contaminación, simulando contaminaciones de petróleo de 0, 3, 6, y 9 %, se aplicó una fertilización equivalente a 500 kg/ha de 12-24-12. El diseño estadístico utilizado fue el de parcelas divididas con cuatro repeticiones, siendo las parcelas principales las cuatro concentraciones de petróleo y las subparcelas los dos tipos de suelos. Los resultados indicaron que los caracteres de crecimiento como, altura de planta, número de hojas, diámetro del tallo disminuyeron en la medida que se incrementa la concentración de petróleo, siendo las reducciones más drásticas a 6 y 9 %. La contaminación con petróleo afecto el crecimiento y desarrollo de las raíces, con tendencia de un enrollamiento de la raíz principal.

Palabras Claves: Derrame petrolero, frijol, crecimiento y desarrollo de plantas

Abstract

The objective of the present work was the soil recovery disabled by the contamination with oil, by means of the use of cowpea crop, with the purpose of contributing to the recovery of agricultural areas. The work was carried out at the Universidad de Oriente in the campus Juanico, under greenhouse conditions. Two types of soils were evaluated, viz. Caripito and Tejero, because this soils are directly involved with petroleum industry activity of the Monagas State. "anime" boxes of 16 kilograms of capacity were used and cowpea was used as indicative crop, each box was divided in two, in each part, a different soil was placed with the same contamination level, simulating oil contaminations of 0, 3, 6, and 9 %, an equivalent fertilization of 500 kg/ha of 12-24-12 was applied. A split-plot design with four replications was used for each crop, levels of oil contamination were assigned to the main plot and soils were assigned to the subplot. The results indicated that the growth characters, viz. plant height, number of leaves and stem diameter diminished with increasing contamination level, especially from 6 % of soil oil contamination. The oil contamination affected in a lineal way the growth and development of roots, with a tendency to the enrolment of main root in cowpea crop.

Key words: Oil spills, cowpea, seedling growth

1. Introducción

La actividad petrolera puede influir notoriamente en las características físicas y químicas de los suelos. La utilización del suelo con fines de explotación petrolera significa cambios de usos que en muchos casos, por razones de seguridad, restringen o limitan usos alternos. La idea de usar plantas para limpiar sistemas contaminados no es nueva. A finales del siglo

19 se propuso el uso de plantas en el tratamiento de aguas residuales.

Por otra parte, las actividades de la industria petrolera y petroquímica de Venezuela actualmente involucran riesgos de ocurrencia de derrames accidentales y emanaciones naturales de hidrocarburos. Así, la industria petrolera necesita de materia prima para realizar sus operaciones, del mismo modo produce una serie de desechos nocivos que son contaminantes de los suelos; entre ellos los

componentes tóxicos se pueden mencionar el plomo, mercurio, arsénico, selenio, cadmio, etc. Los suelos pueden recibir hidrocarburos como en el caso del petróleo, en lugares adyacentes a pozos petroleros o cuando se producen fugas en los conductos. En tales lugares, totalmente contaminados, las plantas son afectadas drásticamente, y puede ser imposible realizar una agricultura comercial [2].

La fitorremediación no es la panacea que algunos defensores de la misma han esperado, pero es una tecnología útil con muchas aplicaciones prácticas para la eliminación de varios contaminantes orgánicos e hidrocarburos del petróleo [19]. Las plantas que crecen en suelos con hidrocarburos como las gramíneas y las leguminosas pueden ser bioindicadores de la calidad del suelo, lo que permite valorar y determinar los factores de riesgo asociados con la exposición de la planta a petróleos nuevo (recién extraído del subsuelo) o intemperizado (expuesto a las condiciones ambientales al menos durante 20 años) y al petróleo acumulado en el suelo por derrames crónicos [17].

El crecimiento de las plantas puede ser inhibido por la exposición a concentraciones iguales o superiores a $40000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de hidrocarburos totales del petróleo (HTP), mientras que concentraciones inferiores a $5000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ normalmente no causan efectos dañinos en el crecimiento vegetal [10].

Como primer paso, deben evaluarse las especies con potencial fitorremediador con base en las concentraciones del contaminante que son capaces de tolerar y posteriormente su capacidad para promover una descontaminación efectiva del suelo. No todas las plantas exhiben la misma tolerancia a contaminantes específicos, por lo que se seleccionan aquellas que puedan tolerar altas concentraciones. Una vez escogidas las especies tolerantes se prueba su capacidad para descontaminar el suelo, que se basa en la eficiencia del proceso, tanto en términos de la reducción de la carga a niveles deseables así como el tiempo requerido para dicho propósito. Entre los compuestos que ameritan el desarrollo de tecnologías de remediación *in situ* se encuentran los hidrocarburos del petróleo (HCP), ya que son productos de amplio uso y por lo tanto presentan una alta probabilidad de ser dispuestos en los suelos y causar daños severos en los ecosistemas. En Venezuela, la investigación sobre fitorremediación de suelos contaminados con HCP es escasa, pero de interés, ya que por la condición de país petrolero requiere implementar técnicas que permitan recuperar suelos contaminados por el petróleo y sus derivados [6].

Muchas especies vegetales pueden ser empleadas tratar una gran cantidad de contaminantes tales como TPH, metales pesados (plomo, mercurio, arsénico, selenio, cadmio, etc) compuestos radioactivos y boro, entre otros. Para aplicar fitorremediación, las especies se seleccionan teniendo en cuenta la tolerancia al

contaminante, el potencial de evapotranspiración, las enzimas degradativas que producen, las tasas de crecimiento, el tipo de crecimiento radicular y la capacidad para bioacumular y/o degradar los contaminantes [11]. Además de otros factores como son la biodisponibilidad de los contaminantes debido a la absorción por las partículas del suelo y la adecuada actividad microbiana [8, 9].

El frijol es una planta que se adapta muy bien a las condiciones de los suelos de sabana, por otra parte, existe una gran actividad petrolera en las sabanas de los estados Monagas y Anzoátegui, por lo que las posibilidades de que ocurra un derrame petrolero son relativamente altas, el uso potencial de esta leguminosa para la fitorremediación de suelos afectados por petróleo debe ser investigado. El frijol ha demostrado su capacidad de tolerancia a condiciones de suelos contaminados. Campos-Ruiz [2] trabajó con diferentes dosis de un ripio petrolero base aceite y encontró que en la mayoría de caracteres evaluados, la respuesta del frijol superó o fue similar a aquella del maíz y en todos los casos tuvo un mejor comportamiento que la patilla (*Citrullus lannatus*). Por otra parte, Castañeda-García [3] sembró tres leguminosas: frijol, caraota (*Phaseolus vulgaris*) y quinchoncho (*Cajanus cajan*) en un suelo con una contaminación artificial de 5 % de petróleo y siete tratamientos de biorremediación y encontró que el frijol fue mucho más tolerante a la contaminación petrolera que la caraota y el quinchoncho.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de las plantas de frijol ante la presencia de diferentes niveles de petróleo, en invernadero para ser recomendadas en el futuro como potenciales recuperadoras de suelo.

2. Materiales y Métodos

2.1 Ubicación del experimento

El ensayo se realizó en el Invernadero de la Universidad de Oriente, Núcleo Monagas, en el Campus de Juanico, Maturín a una altitud 90 msnm. Los suelos seleccionados fueron: uno de la localidad El Tejero del Municipio Zamora específicamente en la finca Santa Emilia, clasificado como un Tipyc Kandiustults y uno de la localidad Caripito del Municipio Bolívar, específicamente de las parcelas hacia el sector de montaña, clasificado como un Tipyc haplustepts.

2.2 Diseño del experimento

Para la instalación del experimento se usó un diseño de parcelas divididas en bloques al azar con

cuatro repeticiones. La parcela principal fueron los niveles de petróleo (0, 3, 6 y 9 %) y las subparcelas los dos suelos (Tejero y Caripito), para un total de ocho tratamientos. El cultivo de frijol fue sembrado en 16 cajas de anime divididas en dos para colocar los dos suelos y cuatro repeticiones para un total de 32 unidades experimentales y en cada una de ellas se colocaron 10 kg de suelo. Se realizó el análisis de varianza convencional y las diferencias entre tratamientos se detectaron mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan. El nivel de significación fue del 5 % para todos los análisis estadísticos.

2. 3 Preparación de los suelos

En cada suelo se simuló una contaminación de petróleo liviano de 0, 3, 6, y 9 %. Para evitar deficiencias nutritivas se fertilizó con el equivalente de 500 kg/ha de 12-24-12. En ambos suelos se mantuvieron las mismas condiciones de humedad, control de malezas, de plagas y enfermedades.

2. 4 Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron: altura de planta, número de hojas, diámetro del tallo, longitud y volumen radical, materia seca del vástago y de la raíz, relación entre altura de planta/longitud de raíz y relación peso de vástago/peso de raíces.

3. Resultados

3. 1 Altura de plantas (cm)

La prueba de rangos múltiples de Duncan (Tabla 1) refleja la altura de plantas a los 8, 16, 24 y 32 días después de la siembra, la misma indicó que en el tratamiento control las plantas de frijol fueron de mayor tamaño en cada una de las fechas de evaluación y que a partir de los 24 días después de la siembra hubo un similar comportamiento en las concentraciones de 3, 6 y 9 %.

3. 2 Número de hojas

La prueba de rangos múltiples de Duncan (Tabla 2) para el número de hojas de las plantas de frijol, muestra que a los 16, 24 y 32 días después de la siembra en los tratamientos 3, 6 y 9 % hubo similar comportamiento, superados todos por el tratamiento control.

3. 3 Diámetro del tallo (cm)

La prueba de rangos múltiples de Duncan (Tabla 3), para el diámetro del tallo de las plantas frijol indicó que a los 8, 16, 24 y 32 días después de la siembra las plantas en el tratamiento control

presentaron tallos más gruesos que en la concentración de 3 % y esta superó a las concentraciones de 6 y 9 %. Las plantas con un mayor diámetro del tallo a los 16 días después de la siembra correspondieron a la del suelo Caripito (Tabla 4).

3. 4 Longitud de raíz (cm)

La prueba de rangos múltiples de Duncan (Tabla 5) para la longitud de la raíz del frijol indicó, que en el tratamiento control la longitud de las raíces de las plantas de frijol tuvo similar comportamiento a aquel del tratamiento de 3 % y superior a las de las concentraciones de 6 y 9 %,

3. 5 Volumen radical (cm³)

El volumen radical fue superior en el tratamiento control y este superior al de la concentración de 3 % superando ambos a las concentraciones de 6 y 9 % (Tabla 5). La prueba de rangos múltiples de Duncan (Tabla 4) indicó que las raíces con mayor volumen correspondieron a las del suelo Caripito.

3. 6 Peso seco del vástago (g)

En la tabla 5 se muestra la prueba de rangos múltiples de Duncan, para el peso seco del vástago del frijol, la misma indica que el peso fue mayor en el tratamiento control que en la concentración de 3 %, la cual fue superior a las concentraciones de 6 y 9 %.

3. 7 Peso seco de la raíz (g)

No se encontraron diferencias significativas para ningunos de los factores evaluados, siendo el promedio general del ensayo de 0,09 g.

3.8 Relación altura de planta/longitud de raíces

La mayor relación altura de planta/longitud de raíces fue ocurrió en el control superando a la de las concentraciones de 3 y 6 % (Tabla 6)

3. 9 Relación peso del vástago/peso de raíces

Para la relación peso del vástago/peso de raíces, esta fue mayor en el tratamiento control seguido por el tratamiento de 3 % y este superó a aquellas obtenidas en 6 y 9 %, siendo estos últimos similares entre si (Tabla 6).

4. Discusión

La contaminación de dos suelos del Estado Monagas, Venezuela con cuatro niveles de petróleo,

afectó el crecimiento y desarrollo de las plántulas de frijol; encontrándose una tendencia general a disminuir los caracteres del crecimiento en la medida que aumenta la concentración de petróleo. Se observa para los caracteres del crecimiento como, altura de planta, número de hojas, diámetro del tallo un menor desarrollo en el tiempo en la medida que aumenta al 6 % la contaminación con petróleo en los suelos, presentándose un retraso en los caracteres de crecimiento por efecto de la mayores niveles de contaminación, esto indica que es posible mediante la utilización de cultivos la recuperación de suelos contaminado con bajos niveles de petróleo, Méndez *et al.* [14] sugieren que la vegetación puede mejorar la biodegradación de los contaminantes a través de la acción microflora de la rizósfera y que la fitorremediación es especialmente apropiada para suelos ligeramente contaminados, si se usa como método a largo plazo, de bajo mantenimiento y remedio de bajo costo.

Es conocido que la contaminación por HCP afecta el desarrollo de las plantas debido a diferentes efectos físicos y químicos. Por una parte, las películas de aceite pueden cubrir las raíces alterando la absorción de agua y nutrientes. Adicionalmente, si el HCP logra penetrar el tejido de las plantas puede dañar la membrana de las células causando pérdida del contenido celular, bloqueo de los espacios intercelulares y reducción del transporte de metabolitos, así como de las tasas de respiración y fotosíntesis [16, 20].

Resultados similares fueron reportados por Orta *et al.* [15] trabajando con el cultivo de frijol bajo diferentes concentraciones de petróleo en un suelo de sabana y encontraron que la tendencia fue de un mayor desarrollo de la parte foliar (peso seco del vástago) de la planta a menor porcentaje de contaminación con petróleo, el peso seco de la raíz de las plantas de frijol siguió una tendencia similar al peso seco del vástago, los autores concluyeron que hay un efecto deletéreo de la contaminación por petróleo sobre la simbiosis rizobio-leguminosa y que en líneas generales se evidenció que a menor contaminación se logra un mayor desarrollo de la planta.

Similarmente, Hernández-Valencia y Mager [6] trabajando con las gramíneas *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha*, indicaron que la contaminación al 3 % de petróleo liviano afectó el desarrollo de las plántulas, tal como se observó para la sobrevivencia y producción de biomasa. La reducción en la producción de biomasa del vástago pudo haber incidido en la cantidad de asimilados que fueron transportados a las raíces para su crecimiento debido a que se observó que la contaminación redujo fuertemente la biomasa y longitud radical máxima de las gramíneas evaluadas y en consecuencia el volumen de suelo y profundidad donde efectivamente ocurre la fitorremediación.

Rivera *et al.* [18] encontraron que el crecimiento vegetativo de cuatro leguminosas mostró diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos, la altura de la planta fue severamente afectada por las tres concentraciones más altas de los petróleos intemperizado ($79457 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ HTP) y nuevo (100000 y $150000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de HTP). La mayor reducción en la altura se presentó en las leguminosas dormilona (*Mimosa sp.*) y zarza (*Mimosa pigra*), donde las plantas no lograron sobrevivir al efecto de la concentración más alta de petróleo ($150000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ HTP); en cambio la planta de guaje (*Leucaena sp.*) fue menos sensible a la exposición de la concentración más alta de petróleo nuevo, ya que sobrevivió a su efecto y creció un poco al pasar de 8 cm de altura al momento inicial a 13 cm después de 120 días de exposición. El chipilín (*Crotalaria sp.*) silvestre fue expuesto por menos tiempo (120 días) que las otras tres especies (150 días) porque tiene un ciclo vegetativo más corto. También presenta la misma respuesta aún bajo la menor concentración de petróleo y fue la especie más sensible al petróleo en el suelo.

Por otra parte, Hernández [5] encontró que las plantas de caraota (*P. vulgaris*) son susceptibles al queroseno y su desarrollo fue afectado a medida que aumento la concentración de queroseno, la producción de biomasa de las plantas de caraota también disminuyó significativamente con el incremento de la concentración de hidrocarburos. Según Luque [13], La contaminación por hidrocarburos tiene un pronunciado efecto sobre las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de un suelo, pudiendo impedir o retardar el crecimiento de la vegetación sobre el área contaminada.

El efecto de la contaminación del suelo con petróleo se ha reportado en otras especies, Egharevba y Osunde [4] estudiaron el efecto de niveles de contaminación de 0,0; 1,52; 3,04 y 4,56 % sobre el crecimiento de plántulas de *Chrysophyllum albidum* G. Don y *Dacryodes edulis* G. Don bajo vegetación en un bosque lluvioso de tierras bajas en el trópico en Benin, Nigeria, los resultados mostraron que el tratamiento con petróleo en el suelo a altas concentraciones de 3,04 y 4,56 % afectaron adversamente el comportamiento del crecimiento de estos cultivos en términos de la altura de la planta, circunferencia del tallo, área foliar, número de hojas y peso seco, resultados muy similares a los obtenidos en este ensayo, mientras que Agbogidi y Eshegbeyi [1] evaluaron el comportamiento de las semillas y plántulas de *D. edulis* en un suelo contaminado con petróleo en Asaba, Nigeria utilizando cuatro concentraciones de petróleo (% en peso) en tratamientos constituidos por suelo, estos fueron 0,00; 2,07; 4,15 y 6,23 % por peso por 1,3 kg de peso de las muestras de suelo y encontraron mostraron que las concentraciones de petróleo de 4,15 y 6,23 % afectaron adversamente el comportamiento de las

plántulas de *D. edulis* en términos de altura de planta, número de hojas, área foliar, circunferencia del tallo y peso seco y el estudio mostró que la contaminación con petróleo tiene un efecto altamente significativo sobre el crecimiento de plántulas de esta especie de árbol frutícola y forestal lo que adicionalmente sugiere que *D. edulis* puede servir como bioindicador de contaminación en área productoras de petróleo del Delta del Níger.

Hutchinson *et al.* [7] indicaron que con el diseño y manejo del sitio apropiado, la presencia de vegetación puede acelerar la biorremediación de HTP en el suelo mediante el mejoramiento de la población microbiana del suelo y la facilitación del movimiento de gases, nutrientes requeridos y agua a través del perfil del suelo y que las consideraciones para el diseño del sitio incluye el contaminante (tipo y cantidad), clima, propiedades del suelo y la selección de la vegetación.

Los resultados de este experimento confirman el efecto tóxico que ejerce el petróleo sobre el crecimiento de las plántulas de frijol desarrolladas en un suelo contaminado. Es de hacer notar que la contaminación con 3 % de petróleo produjo plantas con raíces similares en longitud a las del control, esto es muy importante porque permitiría a las plantas de frijol explorar una mayor cantidad de suelo y llegar a profundidades donde el petróleo no haya lixiviado cuando se produjo el derrame, lo que permitiría un mejor crecimiento y desarrollo de las plantas de frijol.

Lindström *et al.* [12] indicaron que la leguminosa de clima templado *Galega orientalis* es apropiada para la biorremediación de suelos contaminados con petróleo, debido a que tolera niveles moderados de contaminación petrolera y es capaz de recuperarse después de una alta exposición a *m*-toluato, cuando se transfirió a un medio limpio o cuando el *m*-toluato fue removido por la degradación bacteriana.

Sería de interés realizar otras experiencias para probar las especies hipertolerantes a la presencia de contaminantes, ya que ésta es una característica primordial para que las plantas sean usadas en fitorremediación [11].

5. Conclusiones

La contaminación de dos suelos con petróleo ocasionó la disminución de los caracteres de las plantas de frijol, especialmente a las concentraciones más altas (6 y 9 %), indicando que las plantas de frijol pueden crecer sin muchas dificultades a una contaminación leve (3 %).

El cultivo de frijol podría ser utilizado como una planta bioindicadora de suelos afectados por petróleo en estudios de contaminación por hidrocarburos.

6. Agradecimientos

Al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente.

7. Referencias

- [1] Agbogidi, M. O. and Eshegbeyi, F. O. "Performance of *Dacryodes edulis*, Don. G. Lam H. J., seeds and seedlings in a crude oil contaminated soil. *Journal of Sustainable Forestry* 22 nos ¾, 2006, pp: 1-13
- [2] Campos Ruiz., N. K. "Efecto de la aplicación de ripo petrolero base aceite a un suelo de los llanos de Monagas sobre el comportamiento de varios cultivos. Trabajo de Grado para Ingeniero Agrónomo, Universidad de Oriente, Núcleo-Monagas. 1999. pp. 134.
- [3] Castañeda-García, J. M. "Evaluación de diferentes técnicas remediación en un suelo contaminado con petróleo y sembrado con tres leguminosas de grano: frijol, quinchoncho y caraota". Trabajo de Grado para Ingeniero Agrónomo, Universidad de Oriente, Núcleo-Monagas. 2006. pp. 287.
- [4] Egharevba, R. K. and Osunde, D. O. "The effect of crude oil on seedling growth of two forest fruit trees: *Chrysophyllum albidum* (*Gambaya albidum*) and *Dacryodes edulis* G. Don. *Journal of Sustainable Agriculture* 18, nos, 2-3, 2001, pp: 25 - 35.
- [5] Hernández A. E. "Influencia de un complejo de hidrocarburos en poblaciones rizosféricas y en el crecimiento del frijol variedad Michoac. 12-A3". Tesis. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 1997.
- [6] Hernández-Valencia, I. y D. Mager. "Uso de *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano". *BIOAGRO* 15 no. 3, 2003, pp: 149-155.
- [7] Hutchinson, S. L., Schwab, A. P., and Banks, M. K. "Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere" in *Phytoremediation. Transformation and control of contaminants.* Edited by S. C. McCutcheon, and J. L. Schnoor. John Wiley & Sons, Inc, New York, U. S. A. 2003. p. 355-386.
- [8] Jonson, D. L., Jones, K. C., Langdon, C. J., Pearce, T. G. and Semple, K. T. "Temporal changes in earthworm availability and extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil". *Soil. Biol. Biochem.* Vol. 34, 2002, pp: 1363-1370.
- [9] Jonson, D. L., Maguire, K. L., Anderson, D. R. and McGrath, S. P. "Enhanced dissipation of chrysene in planted soil: the impact of a rhizobial

- inoculum". *Soil Biology & Biochemistry* Vol. 36, 2004. p: 33-38.
- [10] Kulakow P, L. "Seed mix and plant density". In *Remediation Technologies Forum*. San Francisco, CA, EEUU. pp. 1-7. 1998.
- [11] Larenas-Parada, G. y De Viana, M. L. "Germinación y supervivencia del pasto cubano *Tithonia tubaeformis* (Asteraceae) en suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. *Ecología Austral* Vol. 15, 2005, pp: 177-181.
- [12] Lindström, K., Jussila, M. M., Hintsa, H., Kaksonen, A., Mokolke, L., Mäkeläinen, K., Pitkäläinen, J., and Suominen, L. "Potential of the *Galega-Rhizobium galegae* system for bioremediation of oil-contaminated soil". *Food Technology and Biotechnology* Vol. 41 no. 1, 2003. p: 11-16.
- [13] Luque, J. "Características edáficas de suelos afectados por derrames de petróleo BIP (Junio): 10-16. 1995.
- [14] Méndez, J., Salazar, R y Velásquez A. "Germinación de las semillas y desarrollo de las plántulas de varios cultivos afectados por un derrame petrolero simulado y la aplicación de un remediador en un suelo de sabana". V Jornadas Institucionales de Investigación. U.P.E.L. Maturín-Venezuela. 2002.
- [15] Orta, A.; A. Leal y V. A. Michelena.. Evaluación ecotoxicológica de suelos contaminados con petróleo mediante la simbiosis rizobio-frijol. *Revista de Agricultura y Biología de Suelos, RABSU* Vol. 1 no. 1, 1999, pp: 34-36.
- [16] Pezeshki, S. R, M. W. Hester, Q. Lin and J. A. Nyman. "The effects of oil spill and clean up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: A review". *Environ. Pollut.* 108, 2000, pp: 129-139.
- [17] Rivera-Cruz, M. C. y Trujillo-Narcía, A. "Estudio de toxicidad vegetal en suelos con petróleos nuevo e intemperizado". *Interciencia* 29, no. 7, 2004, pp: 369-376.
- [18] Rivera-Cruz, M. C., Trujillo-Narcía, A., Miranda De La Cruz, M. A. y Maldonado Chávez, E. "Evaluación toxicológica de suelos contaminados con petróleos nuevo e intemperizado mediante ensayos con leguminosas" *Interciencia* 30 no. 6, 2005, pp: 326-331.
- [19] Schnoor, J. L. 1997. "Phytoremediation groundwater remediation technologies". Analysis Center. Pittsburgh. U. S. A. Disponible en <http://www.gwrtac.org>.
- [20] Xu, J. G. and R., L. Johnson. "Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil-contaminated, remediated and uncontaminated soils planted to barley and field pea". *Plant Soil* 173, 1995, pp: 3-1.

Tabla 1. Prueba de promedio para la altura de planta (cm) de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) a los 8, 16, 24 y 32 días después de la siembra, bajo cuatro niveles de contaminación del suelo con petróleo

Concentración de petróleo (%)	Altura de planta (cm) 1/							
	Días después de la siembra							
	8		16		24		32	
0	12,96	A	27,17	A	29,50	A	25,43	A
3	7,82	B	11,13	B	12,99	B	15,32	B
6	2,02	C	5,35	C	8,01	B	9,80	B
9	3,67	C	6,11	BC	8,21	B	10,25	B

1/ Prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$)

Promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes

Solo comparaciones entre una misma fecha de evaluación (columnas)

Tabla 2. Prueba de promedio para el número de hojas por planta de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) a los 16, 24 y 32 días después de la siembra, bajo cuatro niveles de contaminación del suelo con petróleo

Concentración de petróleo (%)	Número de hojas 1/					
	Días después de la siembra					
	16		24		32	
0	3,86	A	6,64	A	8,13	A
3	2,05	B	3,85	B	4,51	B
6	1,67	B	2,58	B	3,65	B
9	1,86	B	3,10	B	3,49	B

1/ Prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$)

Promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes

Solo comparaciones entre una misma fecha de evaluación (columnas)

Tabla 3. Prueba de promedio para el diámetro del tallo (cm) de las plantas de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) a los 8, 16, 24 y 32 días después de la siembra, bajo cuatro niveles de contaminación del suelo con petróleo

Concentración de petróleo (%)	Diámetro del tallo (cm) 1/							
	Días después de la siembra							
	8		16		24		32	
0	0,39	A	0,43	A	0,43	A	0,45	A
3	0,30	B	0,31	B	0,32	B	0,34	B
6	0,12	C	0,20	C	0,24	C	0,26	BC
9	0,16	C	0,19	C	0,21	C	0,23	C

1/ Prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$)

Promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes

Solo comparaciones entre una misma fecha de evaluación (columnas)

Tabla 4. Prueba de promedio para el diámetro del tallo (cm) y el volumen radical (cm³) de las plantas de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) a los 16 días después de la siembra, en dos suelos

Suelo	Diámetro del tallo (cm) a los 16 días después de la siembra 1/		Volumen radical (cm ³) 1/	
Tejero	0,24	B	0,20	B
Caripito	0,32	A	0,27	A

1/ Prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$)

Promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes

Tabla 5. Prueba de promedio para la longitud de la raíz (cm), volumen radical (cm³) y peso seco del vástago (g) de las plantas de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) bajo cuatro niveles de contaminación del suelo con petróleo

Concentración de petróleo (%)	Longitud de las raíces (cm) 1/	Volumen Radical (cm ³) 1/	Peso seco del vástago (g) 1/
0	7,28 A	0,39 A	1,18 A
3	6,04 A	0,26 B	0,28 B
6	3,54 B	0,18 BC	0,19 C
9	2,64 B	0,12 C	0,13 C

1/ Prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$)

Promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes

Tabla 6. Prueba de promedio para la relación altura de plantas/longitud de raíces y relación peso del vástago/peso de raíces en el cultivo de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), bajo cuatro niveles de contaminación del suelo con petróleo

Concentración de petróleo (%)	Relación altura de planta/longitud de raíces 1/	Relación peso del vástago/peso de raíces 1/
0	4,82 A	8,86 A
3	2,63 B	4,29 B
6	2,59 B	1,93 C
9	3,61 AB	2,00 C

1/ Prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0,05$)

Promedios con letras distintas son estadísticamente diferentes