



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE
VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**Efectos de la contaminación por petróleo pesado en
el suelo sobre la germinación de semillas y
sobrevivencia de plántulas en *Mauritia flexuosa*. L.f.**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre Universidad Central
de Venezuela, por el bachiller Daniel Guitian
Hernández como requisito parcial para optar al
título de Licenciado en Biología

Tutor(es): Dr. Ismael Hernández Valencia
Dr. Valois González Boscán

CARACAS, VENEZUELA

MAYO - 2011

RESUMEN

Los individuos adultos de *Mauritia flexuosa*, conforman el elemento más representativo de las comunidades de morichal. La distribución de gran parte de los morichales, en la Faja del Orinoco, región con importantes reservas de petróleo, y su ubicación en el relieve mas bajo del paisaje de valle, en íntima asociación con los ejes fluviales, los hace potencialmente susceptibles a ser afectados por derrames de crudo. Razón por la cual el presente estudio tiene como objetivo determinar el efecto de diferentes concentraciones de petróleo pesado en el suelo, sobre la germinación de semillas y sobrevivencia de plántulas en *Mauritia flexuosa*, con la finalidad de establecer el intervalo de contaminación del suelo, que permita una propagación efectiva del moriche en actividades de repoblación vegetal, como estrategia de restauración ecológica, en morichales degradados por derrames de petróleo, considerando además diversos tratamientos y condiciones para favorecer la germinación y establecimiento del moriche, que permitan aumentar las probabilidades de éxito en los procesos de reforestación.

Para llevar a cabo este estudio, se realizaron ensayos de toxicidad aguda, establecidos en microcosmos, que permitieron simular “a escala” e “in situ” la descarga de petróleo sobre suelos de morichal en condiciones naturales. Además fueron evaluados diversos tratamientos destinados a mejorar la germinación, considerando los requerimientos e inconvenientes asociados al establecimiento y desarrollo de *Mauritia flexuosa*.

Los resultados demuestran que *Mauritia flexuosa*, mantuvo su capacidad germinativa en suelos contaminados con petróleo pesado en dosis de 0% a 8% y la concentración que generó el 50% de inhibición sobre la germinación (CE₅₀) fue de 5,01%. Las dosis empleadas

no repercutieron significativamente sobre el tiempo de germinación. La dosis letal (CE₅₀) en plántulas fue de 39,81% de petróleo pesado. La contaminación no afectó la longitud y biomasa radical, sin embargo, la longitud del vástago fue afectada a partir de 16% de crudo en el suelo. Respecto a los tratamientos en semillas, la escarificación en la zona del opérculo, favoreció significativamente la germinación. La escarificación por abrasión en toda la testa mejoró significativamente el tiempo de germinación pero promovió el ataque por fitopatógenos, generando una mayor mortalidad de brotes, con relación al resto de los tratamientos. La escarificación química con H₂SO₄ concentrado provocó la perforación de semillas y destrucción del embrión, con un incremento progresivo de incidencia en relación al tiempo de exposición. Las condiciones de siembra demuestran la importancia de la temperatura en la germinación de las semillas de moriche, donde altas temperaturas con amplias fluctuaciones periódicas, favorecieron la germinación. A temperatura constante de 35°C ocurrió el más alto porcentaje de abortos entre tratamientos y condiciones. Por su parte en semillas sembradas directamente en el suelo, las limitaciones hídricas propiciaron un aumento de la mortalidad de vástagos.

Los resultados obtenidos permitieron establecer un conjunto de recomendaciones para la repoblación de *Mauritia flexuosa* en morichales afectados por derrame de crudo.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	8
2. OBJETIVOS	20
2.1. Objetivos Generales.	20
2.2. Objetivos específicos.	20
3. MATERIALES Y METODOS.....	21
3.1. Caracterización de los suelos	21
3.2 Bioensayos de toxicidad aguda con hidrocarburos de petróleo pesado sobre la germinación..	21
3.3. Efectos del hidrocarburo de petróleo pesado sobre la sobrevivencia de plántulas.	23
3.4. Evaluación de la germinación bajo diferentes tratamientos.	24
3.4.1. Remojo en agua corriente.....	24
3.4.2. Escarificación por abrasión.....	24
3.4.3. Escarificación química	25
3.5. Evaluación de la germinación en condiciones ambientales contrastantes.....	25
3.6. Efecto del tamaño de las semillas sobre la germinación.	26
3.7. Evaluación de la tasa de crecimiento en plántulas.	26
3.8. Análisis estadísticos.....	27
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
4.1. Análisis de las propiedades físicas y químicas del suelo utilizado en los ensayos.	28
4.1.1. Textura, capacidad de campo y contenido de materia orgánica.	28
4.1.2. pH, Cationes Intercambiables, Fosforo disponible y Nitrógeno total.	31
4.2. Efecto de la contaminación por petróleo pesado en el suelo sobre la germinación en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i>	32
4.2.1. Germinación.	32
4.2.2. Tiempo de germinación	36
4.2.3. Índice de germinación.....	37

4.3. Efectos de la contaminación por petróleo pesado en el suelo sobre la sobrevivencia y desarrollo de plántulas en <i>Mauritia flexuosa</i>	40
4.3.1. Sobrevivencia de plántulas.....	40
4.3.2. Desarrollo de plántulas.	44
4.3.2.1. Tasa de crecimiento del vástago.	44
4.3.2.2. Longitud máxima del vástago y la raíz.	46
4.3.2.3. Peso total	46
4.3.3.4. Peso parcial y relación vástago/raíz.....	48
4.4. Evaluación de la germinación en <i>Mauritia flexuosa</i> , bajo diferentes tratamientos y condiciones.	51
4.4.1. a. Germinación en semillas tratadas.....	51
4.4.1.b. Germinación de semillas sembradas en condiciones ambientales contrastantes.	54
4.4.2.a. Tiempo de Germinación en semillas tratadas.....	59
4.4.2.b. Tiempo de Germinación en semillas sembradas en condiciones ambientales contrastantes.	60
4.4.3.a. Mortalidad de vástagos procedentes de semillas tratadas.	63
4.4.3.b. Mortalidad de vástagos procedentes de semillas sembradas en condiciones ambientales contrastantes.	63
4.5. Efecto del tamaño de las semillas sobre la capacidad germinativa de <i>Mauritia flexuosa</i>	67
4.5.1. Germinación	69
4.5.2. Tiempo de germinación.	70
4.6. Evaluación de la tasa de crecimiento en plántulas de <i>Mauritia flexuosa</i>	71
5. CONSIDERACIONES FINALES.....	74
6. CONCLUSIONES.	76
7. BIBLIOGRAFÍA.....	78
8. ANEXOS	86

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Porcentaje de germinación (media \pm d.e) en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> sembradas en diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado (HPPP) en el suelo.	34
Fig. 2. Relación dosis respuesta, mediante análisis Probit.....	36
Fig. 3. Elongación del pecíolo (media \pm d.e) en plántulas de <i>Mauritia flexuosa</i> , posterior a 5 meses de la siembra de semillas en diferentes concentraciones de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP) en el suelo.	39
Fig. 4. Índice de germinación en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> sembradas en diferentes concentraciones de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP) en el suelo.	39
Fig. 5. Porcentaje de sobrevivencia en plántulas de <i>Mauritia flexuosa</i> , expuestas a diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP), durante dos meses.	41
Fig. 6. Relación dosis respuesta, mediante análisis Probit.	42
Fig. 7. Desarrollo del vástago en plántulas de <i>Mauritia flexuosa</i> , expuestas a diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP), durante los dos meses de ensayo.....	45
Fig. 8. Peso seco total (media \pm d.e) en plántulas de <i>Mauritia flexuosa</i> , expuestas a diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP).	48
Fig. 9. Germinación (media \pm d.e) en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> sometidas a diversos tratamientos.....	53
Fig. 10. Destrucción en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> en los diferentes tiempos de exposición al H ₂ SO ₄ durante la escarificación química.....	54
Fig. 11. Germinación (media \pm d.e) en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> sembradas en condiciones diferentes.	57
Fig. 12. Tiempo de germinación en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> sometidas a diversos tratamientos.	60
Fig. 13. Tiempo de germinación en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> sembradas en condiciones ambientales distintas.	62
Fig. 14. Mortalidad de vástagos procedentes de semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> sometidas a diversos tratamientos.....	64
Fig. 15. Mortalidad de vástagos procedentes de semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> sembradas en condiciones contrastantes.	66
Fig. 16. Porcentaje de germinación (media \pm d.e) en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> , según clase de tamaño.	70

Fig. 17. Tasa de crecimiento en plántulas de *Mauritia flexuosa* durante los primeros 120 días de desarrollo. 72

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proporción de las fracciones minerales del suelo	29
Tabla 2. Propiedades químicas de las muestras de suelo.	32
Tabla 3. Tiempo de germinación (media \pm d.e) en semillas de <i>Mauritia flexuosa</i> , sembradas en diferentes concentraciones de petróleo pesado.	37
Tabla 4. Longitud del vástago y raíz principal (media \pm d.e), en plántulas de <i>Mauritia flexuosa</i> , expuestas a diferentes dosis de petróleo pesado, durante dos meses.	47
Tabla 5. Peso seco de cada fracción (media \pm d.e) y Relación Vástago/ Raíz, en plántulas de <i>Mauritia flexuosa</i> , expuestas a diferentes dosis de petróleo pesado durante dos meses.....	49
Tabla 6. Relación entre longitud y peso promedio para cada clase de tamaño establecidas a semillas usadas en la evaluación.....	68
Tabla 7. Tiempo de Germinación (media \pm d.e) con relación al tamaño de semillas de <i>Mauritia flexuosa</i>	71
Tabla 8. Capacidad germinativa de <i>Mauritia flexuosa</i> sembradas en suelos contaminados con diferentes concentraciones de hidrocarburo de petróleo (HCPP) pesado en el suelo.....	86
Tabla.9. Efecto de dosis crecientes de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP) en el suelo, sobre la germinación de <i>Mauritia flexuosa</i> , representado en unidades Probit.	87
Tabla 10. Supervivencia de plántulas y crecimiento del vástago en <i>Mauritia flexuosa</i> durante los dos meses de exposición a diferentes dosis de petróleo pesado.....	87
Tabla 11. Porcentajes, tiempos de germinación y mortalidad de brotes de <i>Mauritia flexuosa</i> en los diferentes tratamientos y condiciones.	88
Tabla 12. Desarrollo del vástago en plántulas de <i>Mauritia flexuosa</i> durante los primeros 120 días de desarrollo.	89

1. INTRODUCCIÓN

La Revolución Industrial representó un importante cambio en la calidad de vida de la especie humana; sin embargo, desde que esta se inició, se ha evidenciado un rápido incremento de los efectos perjudiciales de los contaminantes de origen industrial sobre diversos ecosistemas, situación que ha aumentado la preocupación por el deterioro del ambiente y promovido diversas estrategias gubernamentales con la intervención de la comunidad científica, grupos conservacionistas y sociedad general, orientadas a la preservación de la biodiversidad y los recursos naturales. A nivel mundial se han creado un conjunto de normativas ambientales para regular las actividades que puedan generar desechos capaces de degradar el ambiente, entre los cuales destacan el Principio N° 6 sobre la descarga de sustancias tóxicas, propuesto en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Humano (ONU, 1972), la Sección II del programa 21, concerniente al manejo de los productos tóxicos, establecido en la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y Desarrollo en Brasil (ONU, 1992) y el Capítulo 19, relacionado a los desechos industriales, estipulado en el plan de acción de la conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y Desarrollo en Sudáfrica (ONU, 2002). En lo que respecta a las regulaciones ambientales en Venezuela, se han promulgado varios instrumentos legales que permiten regular las actividades que atenten contra el medio ambiente, tales como, la Ley Orgánica del Ambiente de 1976, Ley Penal del Ambiente y sus Normas Técnicas de 1992, Ley sobre Sustancias, Materiales y Desechos Peligrosos de 2001 y varios decretos vinculados a las actividades industriales, donde es pertinente mencionar el Decreto N° 1257 sobre las Actividades Susceptibles a Degradar el Ambiente y el Decreto N° 2635, publicado en Gaceta

Oficial N° 5245 (Republica de Venezuela, 1998) donde destaca el Capitulo III, en el cual se establecen las Normas para el Control de la Recuperación de Materiales Peligrosos y el Manejo de los Desechos Peligrosos.

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), los desechos tóxicos representan un grave problema en los ecosistemas terrestres, debido a la contaminación del suelo, que disminuye la capacidad actual y potencial del suelo para producir, cuantitativa y cualitativamente, bienes y servicios. La FAO define la contaminación como una forma de degradación química que provoca la pérdida parcial o total de la productividad del suelo. Ello ocurre, ya que el suelo es receptor de los desechos tóxicos, que al penetrar y establecerse, se incorporan a los ciclos biogeoquímicos, afectando a todas las formas de vida asociadas a este (Brady, 1990).

Entre los desechos tóxicos de mayor relevancia en nuestros días se encuentra el petróleo, un recurso natural no renovable que aporta el mayor porcentaje del total de la energía que se consume en el mundo. Los componentes del petróleo son generalmente agrupados en cuatro clases de acuerdo a su solubilidad en solventes orgánicos. Ellos son: saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos (SARA). No todos los componentes del petróleo se degradan con la misma rapidez. Por ejemplo, las parafinas de cadenas cortas son sustratos fácilmente degradables por los microorganismos seguidos en orden descendiente por las parafinas de cadena larga, isoparafinas, cicloparafinas, aromáticos, heterocíclicos, resinas y asfaltenos. Las resinas y los asfaltenos se consideran resistentes a la biodegradación, mientras que los compuestos saturados y aromáticos suelen ser más volátiles y biodegradables, pero también más tóxicos que las fracciones de resinas y asfaltenos (Atlas 1991). En tal sentido el petróleo

ligero es más tóxico que los petróleos mediano y pesado, debido a que presenta mayor proporción de hidrocarburos saturados y compuestos polares.

A nivel mundial la principal fuente de contaminación de los suelos por hidrocarburos, proviene de los derrames generados por la industria petrolera (Espinoza-Rivera y Dendooven, 2004) y representan un problema importante en la mayor parte de los países productores de petróleo. Este tipo de contaminación tiene un pronunciado efecto sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo pudiendo impedir o retardar el crecimiento de la vegetación sobre el área contaminada (Lieth y Markert, 1990), además de tener efectos mutagénicos y carcinogénicos sobre los seres vivos (Flores y col. 2001).

El petróleo limita la absorción de agua y nutrientes por parte de las plantas debido a la capa de aceite que cubre las raíces o forma una película alrededor de las semillas, que dificultan el flujo de oxígeno, agua y nutrimentos requeridos para el desarrollo de la plántula (Mathew y col. 2006). Adicionalmente, puede generar una disminución de la tasa de transpiración y fotosíntesis en plantas vasculares, debido probablemente al bloqueo de espacios intercelulares, estomas, acumulación de productos secundarios que limitan la distribución de asimilados y a cambios morfológicos importantes en la fina estructura celular (Baker 1970, Blankenship y Larson 1978; citado en: Bevilacqua y González, 1994). El carácter lipofílico de algunos componentes del petróleo como naftalenos, fenoles y compuestos aromáticos, pueden afectar la estabilidad de la membrana celular y traducirse en disrupciones de los organelos citoplasmáticos como en el caso de las mitocondrias y cloroplastos, al igual que en la molécula de clorofila, cuando el hidrocarburo recubre las hojas (Baker, 1970; citado en: Bevilacqua y González, 1994). Además, los compuestos aromáticos

pueden entrar a la semilla inhibiendo el desarrollo del embrión debido a su toxicidad (Molina-Barahona y col. 2005). Los asfaltenos son menos tóxicos, pero pueden actuar como barreras físicas para el intercambio gaseoso (Atlas 1991).

La toxicidad de una sustancia es evaluada, según la capacidad que tiene ésta para generar efectos nocivos en los seres vivos y el grado de peligrosidad dependerá tanto de la composición química y concentración del compuesto, como de la tolerancia de los organismos expuestos (Zamora y García, 2009). En los ecosistemas terrestres una forma de predecir el riesgo de los hidrocarburos consiste en la aplicación de pruebas de fitotoxicidad, diseñadas para determinar el potencial efecto tóxico de compuestos puros o mezclas incorporadas al suelo sobre los procesos de germinación de semillas y el desarrollo de plántulas. Estas pruebas permiten además establecer rápidamente el grado de contaminación de suelos impactados (Zamora y García, 2009). Las pruebas pueden realizarse mediante cortos periodos de exposición, con relación al ciclo de vida de la planta, evaluando la mortalidad total de individuos, en cuyo caso se denominan pruebas agudas, o de mayor duración, denominadas crónicas, en las cuales el tiempo de exposición del bioensayo debe ser mayor o igual al 10 % del tiempo de vida de la planta, y permiten evaluar parámetros de desarrollo y fecundidad (Zamora y García, 2009).

En Venezuela la evaluación de los efectos adversos de la contaminación por hidrocarburos en ecosistemas naturales y su efecto toxico sobre los organismos, resultan de gran importancia, debido a su condición de país productor de petróleo. El plan de siembra petrolera, adoptado en Venezuela, en los últimos años por Petróleos de Venezuela, tiene como finalidad intensificar las actividades petroleras, incluyendo exploración, perforación,

producción y refinación de hidrocarburos (Zamora y García, 2009), aumentando la probabilidad de accidentes operacionales que generen derrames de hidrocarburo en ecosistemas aledaños a la industria petrolera. Buena parte de la industria petrolera se desarrolla en los Llanos Orientales venezolanos, principalmente en la Faja Petrolífera del Orinoco, región que posee una extensión de 55.314 km² y en donde existen condiciones ecológicas favorables para el desarrollo de morichales, particularmente en las planicies de turba del Delta Medio e Inferior del Orinoco y en las planicies y altiplanicies antiguas de los Llanos Centrales, Meridionales y Orientales (González, 1987; 2009a; 2009b). Esta situación hace particularmente vulnerables a los morichales a hacer degradados por las actividades de la industria petrolera, especialmente en caso de accidentes por derrames de petróleo.

En Venezuela, el termino morichal es utilizado para denominar una comunidad en la cual los individuos adultos de la palma arbórea *Mauritia flexuosa* conforma el elemento mas representativo. También se conoce a la comunidad vegetal como palmar de pantano de *Mauritia flexuosa* (Beard, 1952; Meyer, 1990, Bacon, 1990). La palma de moriche *Mauritia flexuosa*, está distribuida en la región tropical de Sur América (Perú, Colombia, Brasil, Bolivia, Guayana Francesa, Surinam y Venezuela). Aparentemente su centro de especiación ha sido la cuenca Amazónica donde existen otras especies del mismo género. *Mauritia flexuosa*, se establece en zonas inundadas con suelos pantanosos, aunque su persistencia en el tiempo solo está asegurada si existe un cierto movimiento lateral superficial o en el acrotelmo de los suelos orgánicos que garantice la oxigenación parcial de agua de escorrentía (González y Rial, 2011) y su densidad poblacional puede variar desde pocos individuos aislados, creciendo en una matriz forestal o herbácea, formando parches a nivel paisajístico hasta

comunidades en donde la palma forma el principal elemento estructural y florístico a causa de su alta densidad. Entre ambos extremos es posible encontrar comunidades con diferente fisonomía y composición florística, pero que tiene como elemento común, la presencia de individuos de diferentes edades y en densidades variables de la palma (González, 1987; 2009a).

Las comunidades de morichal, se encuentran asociadas a un medio de acumulación en forma de planicie aluvial alargada y reciente cuya morfogénesis esta determinada por la dinámica fluvial, característico de un paisaje de valle, el cual generalmente está dominado en altura por un nivel de terraza que constituye otro tipo de relieve presente en el paisaje citado de los Llanos Orientales. Este tipo de relieve se origina por cambios en el nivel de base del río Orinoco a consecuencias del descenso del nivel del mar durante el Cuaternario. Además de la condición geomorfológica la presencia de las comunidades de morichal está influenciada por la dinámica fluvial y su asociación con planicies meándricas y de inundación, presentando suelos saturados y en algunos casos una lamina de agua de profundidad variable (Zamora y col. 2009).

La ubicación de las comunidades de morichal en la zona mas baja del relieve y su íntima asociación con los ejes fluviales, la hace potencialmente susceptible a ser afectada por sustancias contaminantes, que pueden ser transportados por gravedad o por el agua. En el caso de sustancias solubles en agua, estas pueden ser incorporadas por escorrentía superficial y subterránea; en esta última, se afectan los acuíferos profundos que recargan continuamente los ríos de morichal. Asimismo en los eventos de contaminación que han ocurrido en esta región natural de los Llanos de Venezuela relacionados con la explotación, almacenamiento y

transporte del petróleo puede alcanzar las comunidades de morichal por la acción de la gravedad y en algunos casos por la conformación de gotas de muy pequeño diámetro, expulsados a las secciones bajas de la atmosfera por los gases acumulados en los pozos abandonados cuando estos experimentan por su obsolescencia fracturas en el cabezal del pozo (Bevilacqua y González, 1994). Una vez que los contaminantes alcanzan el cuerpo de agua, los efectos adversos se trasladan aguas abajo, extendiendo así el área de afectación (Zamora y col. 2009).

La necesidad de la conservación de los morichales, especialmente de la palma de moriche (*Mauritia flexuosa*) radica en su importancia ecológica, valor paisajístico, utilidad social, vinculación cultural y potencial económico. Con relación a la importancia ecológica, las comunidades de morichal, pueden ser consideradas como un ecosistema en el cual existe un continuo flujo de materiales y energía entre el subsistema terrestre y acuático. Según González (1987, 2009), la mayor parte de la energía necesaria para el mantenimiento de la trama trófica del subsistema acuático, se deriva aloctonamente del componente terrestre de la comunidad de morichal adyacente a los ríos, en forma de insectos, flores, frutos y fragmentos de material vegetal, principalmente de la palma de moriche (*Mauritia flexuosa*).

En Venezuela, los ecosistemas de morichal albergan una gran diversidad de especies animales, que dependen directa o indirectamente de la palma de moriche, entre los cuales es pertinente mencionar aquellos en situación de amenaza, como los osos palmeros, dantas, venados caramerudos, cunaguaros, tigrillos, yaguares, perros de agua, manatíes, tortugas arrau y caimanes del Orinoco. Otras especies consideradas vulnerables y mencionadas en el Libro

Rojos de la Fauna Venezuela (Rodríguez y Rojas Suárez, 1995) como los pumas, báquiros, caretos, chigüires, lapas y loros reales, habitan en estos ecosistemas.

La contaminación de los morichales con hidrocarburos puede generar consecuencias sobre la fauna, por la alteración del desarrollo y la reproducción, debido a la perturbación de sitios de refugio, alimentación y apareamiento (Zamora y col. 2009). En este sentido, la contaminación por hidrocarburos de la palma de moriche, afecta también a los herbívoros que la consumen, incorporando las sustancias tóxicas a través de las cadenas tróficas y generando su acumulación en los depredadores topos. Adicionalmente, se pueden generar alteraciones en otros procesos ecológicos como la simbiosis y competencia, generando cambios en la estructura biológica, especialmente en abundancia, riqueza, equidad y por ende en la diversidad de la comunidad de morichal. También resulta importante destacar la importancia de los morichales, como corredor ecológico, debido a su configuración en el paisaje, que favorece el flujo de especies entre ecosistemas boscosos aislados (Zamora y col. 2009). Además, la comunidad de morichal, actúa como protectora de cauces de agua (González, 1987) y es particularmente importante en los llanos de Venezuela, que presentan un clima estacional y en donde la época seca es crítica para la fauna. Otro servicio ambiental de los morichales es su participación local o regional en la regulación del clima, del ciclo hidrológico y la fijación de carbono. Además de su posible actuación como filtros ambientales, mediante la recepción, estabilización y degradación de contaminantes (Zamora y col. 2009). Sin embargo, estos últimos aspectos no han sido evaluados.

Con relación al potencial paisajístico y recreacional, resulta pertinente destacar el valor escénico de los morichales, influenciado principalmente por la arquitectura en la forma de

crecimiento de la palma de moriche, y la fauna asociada, particularmente aves de la Familia Psittacidae, entre los cuales, los loros, guacamayas y periquitos se alimentan de los frutos de la palma de moriche (González, 1987, González y Rial, 2011). El valor escénico de los morichales, incrementa gracias a la impresión visual que genera la íntima asociación entre el moriche y los cuerpos de agua fluviales, que son utilizados, como balnearios y sitios de recreación por parte de los habitantes de la región. Concerniente a la utilidad social y potencial económico de la palma de moriche, destaca la producción de bebidas, conservas, aceites y medicinas a partir de los frutos. A través, de la medula del tronco se obtiene almidón, utilizado en la preparación de panes (González, 1987; 2009a; González y Rial, 2011). Las hojas y troncos son usados en la construcción de viviendas y las fibras obtenidas de la epidermis de las hojas jóvenes del moriche son utilizadas en la elaboración de artesanía por parte de las etnias y población local (Ponce, 2000).

Considerando los valores culturales asociados a la palma de moriche, resalta la importancia religiosa que tiene esta palma en las comunidades indígenas, catalogada como “Ojiru” (Árbol de la vida) por los Warao en el Delta del Orinoco (Wilbert, 1969). Además de los Warao, esta palma ha sido y es utilizada por las etnias Yaruro del estado Apure, Yekuana y Piaroa del estado Amazonas, Pemón del estado Bolívar y por algunos criollos de los estados Anzoátegui, Monagas, Apure y Guárico (Braun y Delascio 1987)

Aún conociendo la alta vulnerabilidad de los ecosistemas de morichal y su importancia, ecológica y socioeconómica son muy escasos los trabajos relativos a los efectos de las actividades antrópicas sobre estos. Incluso, el estado de conservación de las palmas venezolanas en general, es poco conocido (Stauffer, 1999). Sin embargo, del total de países

que conforman la cuenca Amazónica, solo Venezuela posee dentro su legislación ambiental una normativa que tiene como único objetivo la protección y el uso racional de las comunidades de morichal. El Decreto N°846 promulgado en abril de 1990, establece las Normas para la Protección de Morichales (Gaceta Oficial 1990), en su artículo 10, promueve la implementación de programas de investigación con la finalidad de propiciar la protección y conservación de los ecosistemas de morichal por parte de las empresas que durante varios años estén autorizadas para ejecutar proyectos de utilidad pública en sectores aledaños a estos ecosistemas, debiendo fomentar y desarrollar planes de repoblación vegetal como estrategia de restauración ecológica de morichales afectados (Republica de Venezuela, 1990)

Tomando en cuenta lo anterior, resulta importante divulgar dentro de la industria petrolera, la relevancia ecológica, ambiental, paisajística, social, cultural y económica que tienen las comunidades de morichales, especialmente la palma moriche *Mauritia flexuosa*, con la finalidad de propiciar una política ambiental que genere el menor impacto posible sobre los morichales, mediante la aplicación de métodos que permitan estimar los intervalos de contaminación tolerable y promover actividades de restauración o recuperación en los morichales degradados, a través de formas efectivas de propagación vegetal.

La restauración de un área degradada tiene como finalidad recuperar la estructura, función, diversidad y dinámica del ecosistema antes de la perturbación. En ecosistemas terrestres la primera estrategia de restauración debe estar orientada a la repoblación vegetal, tomando en cuenta la sucesión vegetal en el área (Guariguata, 1999). Para garantizar el éxito de los procesos de restauración ecológica es necesario el estudio de distintos aspectos de las especies nativas seleccionadas para las actividades de reforestación, tales como la biología

reproductiva, caracterización de las unidades de dispersión, requerimientos de la semilla para su germinación y condiciones necesarias para el establecimiento y desarrollo de las plántulas, entre otros (Ivanauskas y col, 2007).

Según González (1987), atributos como la dispersión de semillas a grandes distancias, asociada a la capacidad de flotación de la semilla en el agua (hidrocoria), ha permitido que este tipo de dispersión en combinación con la zocooria permita su establecimiento y crecimiento en claros producidos por acción antrópica o natural, el alto número de frutos producidos anualmente (entre 1500 a 5000 frutos) y la exigencia de elevados niveles de irradiación para el crecimiento de las plántulas, ubican a *Mauritia flexuosa* como una especie temprana en el proceso sucesional de la comunidad de morichal, con características de especie arbórea pionera o colonizante. En este sentido *Mauritia flexuosa* presenta características favorables para propiciar actividades destinadas a la restauración de morichales degradados. En el caso particular de los morichales degradados por derrame de petróleo resulta necesario estimar la tolerancia de *Mauritia flexuosa* a la contaminación por petróleo, con relación a los procesos de germinación y desarrollo de plántulas, para establecer el intervalo de contaminación del suelo por petróleo, que permita una repoblación efectiva del moriche.

Otro aspecto que debe ser considerado en los proyectos de repoblación está relacionado con la germinación de las semillas. La germinación es el número de pasos consecutivos que causan que una semilla, con un bajo contenido de agua, muestre una elevación en su actividad metabólica general e inicie la formación de una plántula a partir de un embrión (Devlin, 1980). Según Vázquez y Orozco (1990) parámetros tales como la biología de la semilla,

requerimientos para la germinación, tipos de plántulas y procesos de establecimiento, son desconocidas en la mayoría de las especies de palma. La germinación y el establecimiento de plántulas representan las fases más críticas en el ciclo de vida de las palmas. Las investigaciones a este estadio, lo definen como el más relevante desde el punto de vista de los cambios numéricos de la población (Harper, 1977).

En *Mauritia flexuosa* la germinación es adyacente e hipógea. La semilla presenta una forma ovoide con un endospermo homogéneo y córneo (González 1987). El embrión es estrobiliforme, sub-basal hasta lateral (Velasquez, 1994). De la semilla emerge un cuerpo hinchado, a partir del cual surge la plúmula (Capisto, 2000) y posteriormente la radícula. Esta última es pequeña y remplazada rápidamente por raíces secundarias. Sin embargo, aun se desconocen la mayoría de los detalles relacionados con la germinación de semillas y establecimiento de plántulas de moriche (Ponce, 2000) En tal sentido, la evaluación de tratamientos y condiciones que favorezcan la germinación de las semillas de moriche, resultan de particular importancia en la implementación de actividades destinadas a la propagación de esta planta con fines de restauración.

El presente trabajo comprende la evaluación del efecto de la contaminación por petróleo pesado en el suelo sobre la germinación de semillas y sobrevivencia de plántulas, considerando estrategias, tratamientos y condiciones de selección, siembra y manipulación de semillas y plántulas, que permitan establecer el intervalo de tolerancia, precisando formas efectivas de propagación en futuros planes de repoblación vegetal como estrategia de restauración ecológica de morichales afectados por derrames de petróleo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Generales.

- Determinar el efecto de diferentes concentraciones de hidrocarburo de petróleo en el suelo, sobre la germinación de semillas y sobrevivencia en plántulas de *Mauritia flexuosa*.
- Evaluar diversos tratamientos destinados a favorecer la germinación de semillas de moriche.

2.2. Objetivos específicos.

- Establecer el intervalo de contaminación del suelo por petróleo pesado, que permita una propagación efectiva del moriche.
- Identificar entre tratamientos de semillas de *Mauritia flexuosa*, aquellos que estimulan la germinación.
- Realizar recomendaciones para la repoblación de *Mauritia flexuosa* en áreas afectadas por derrame de hidrocarburos de petróleo pesado.

3. MATERIALES Y METODOS

Para la realización de esta investigación se utilizaron semillas de *Mauritia flexuosa* provenientes de frutos de individuos adultos con flores femeninas ubicados en el Morichal Lamedero, en Mapire, estado Anzoátegui. Los ensayos se realizarán en condiciones de umbráculo con suelo superficial obtenido en la misma localidad.

3.1. Caracterización de los suelos

Se realizó una caracterización física y química general de los suelos utilizados en los ensayos. Las características evaluadas fueron: a) capacidad de campo, b) textura, c) contenido de materia orgánica, d) pH, e) contenido de P disponible, N total y Ca, Mg, K y Al intercambiable. Los métodos utilizados en estas determinaciones se encuentran descritos en Anderson e Ingram (1993).

3.2 Bioensayos de toxicidad aguda con hidrocarburos de petróleo pesado sobre la germinación.

Se evaluaron los efectos de diferentes concentraciones de hidrocarburos en el suelo, sobre la germinación de semillas, mediante ensayos de toxicidad aguda establecidos en microcosmos en condiciones de umbráculo, permitiendo simular “a escala” e “*in situ*” la descarga de petróleo sobre suelos de morichal en condiciones naturales. El contaminante empleado en las pruebas de toxicidad, fue hidrocarburo de petróleo pesado (16° API). La selección de un hidrocarburo pesado se debió a que el país y particularmente la Faja

Petrolífera del Orinoco poseen grandes reservas de este tipo de hidrocarburos, por lo tanto es probable que se generen derrames con este tipo de hidrocarburo.

Se aplicaron 9 tratamientos por triplicado, en donde cada réplica contenía 10 semillas, con concentraciones de hidrocarburo en el suelo de 0%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 4%, 8%, 16% y 32%. Las mezclas de cada tratamiento se realizaron de manera homogénea y justo antes de iniciar las pruebas de fitotoxicidad, mediante la siembra de las semillas. Para el establecimiento de estos microcosmos se emplearon envases de 10,5 cm de largo y 8 cm de ancho con capacidad para contener 250 g de suelo. Se sembró una semilla en cada envase, utilizando 30 semillas por dosis, para un total de 270 semillas, sembradas a 2 cm aproximadamente, manteniendo la saturación del suelo mediante riegos constante durante 5 meses. Se determinó el porcentaje de germinación, mediante la siguiente expresión:

$$\% G = (PG/PT) \times 100$$

Donde % G es el porcentaje de germinación, PG es el número de plantas germinadas y PT es el número total de plantas evaluadas. Para determinar la germinación se utilizó como criterio la aparición visible de un cuerpo hinchado a partir del cual surge del pecíolo cotiledonar y posteriormente la radícula.

Luego se determinó el índice de germinación, que es un indicador que ofrece una mejor descripción sobre el potencial fitotóxico de una sustancia, ya que contempla una descripción más completa de los efectos adversos del contaminante (Zamora y García, 2009). El IG se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$IG = (G \times L / Gc \times Lc) \times 100$$

Donde IG es el índice de germinación (%), G es el numero de semillas germinadas en cada concentración, Gc es el numero de semillas germinadas en el control, L es el promedio de la elongación del peciolo cotiledonar (*mm*) en cada concentración y Lc es el promedio de la elongación del peciolo cotiledonar (*mm*) en el control.

3.3. Efectos del hidrocarburo de petróleo pesado sobre la sobrevivencia de plántulas.

Plántulas de aproximadamente 20 cm obtenidas por germinación fueron sometidas a una prueba de toxicidad aguda a través de la exposición a concentraciones crecientes de hidrocarburo de petróleo pesado (16° API). Las concentraciones de hidrocarburo empleadas fueron 0%, 4%, 8%, 16%, 32% y 64%. Un total de 36 plántulas (6 por dosis) con hojas expandidas, buena condición y constitución, lo mas homogénea posible, fueron trasplantadas en los envases con suelos limpios o contaminados, con capacidad para 1 Kg de la mezcla en las concentraciones establecidas. Se procuro la saturación del suelo mediante riego constante. Luego de 60 días se contaron el número de plantas sobrevivientes. Se realizaron mediciones mensuales de la elongación del vástago, durante los dos meses de exposición. Posteriormente las plántulas fueron cosechadas y secadas en estufa por tres días a 70 °C para la estimación del peso total y de cada fracción.

3.4. Evaluación de la germinación bajo diferentes tratamientos.

Se aplicaron 3 tratamientos a las semillas con la intención de identificar cual de ellos mejora tanto la cantidad como la velocidad de germinación. Los tratamientos utilizados fueron: 1) remojo en agua corriente (AC), 2) escarificación por abrasión (EA) y 3) escarificación química (EQ). Adicionalmente se mantuvo un control (C) en donde las semillas no recibieron ningún tipo de tratamiento. Una vez tratadas, las semillas fueron ubicadas en el umbráculo y sembradas cada una en el suelo contenido en envases de 10,5 cm de alto, 8 cm de ancho, con capacidad para contener 250 g de suelo, el cual se mantuvo saturado de agua mediante riego constante. Luego de 180 días, se contabilizó el número de semillas germinadas. A continuación se presentan en detalle los tratamientos utilizados.

3.4.1. Remojo en agua corriente.

Un factor limitante en el proceso de germinación esta vinculado con la hidratación de la semilla, asociado al impedimento mecánico que produce la testa. Con la intención de hidratar las semillas y activar la germinación, las mismas fueron sumergidas durante 7 días, en agua corriente a temperatura ambiente. El agua fue cambiada diariamente.

3.4.2. Escarificación por abrasión.

La latencia física, es característica de semillas con testas duras y cutinizadas, como el caso del moriche. Esta condición impide completamente la imbibición de agua y el intercambio de gases. Con la finalidad de aumentar la permeabilidad de las semillas se realizaron dos tratamientos, destinados a desgastar la cubierta mediante papel de lija. Un tratamiento consistió en eliminar completamente la testa y en el otro se procedió a escarificar únicamente en la zona del opérculo.

3.4.3. Escarificación química

Este tipo de escarificación se lleva a cabo utilizando sustancias químicas que permitan además de debilitar la capa externa de las semillas, liberarlas de posibles plagas o impurezas que podrían estar adheridas en la misma, inhibiendo la germinación del embrión. Las semillas fueron embebidas en ácido sulfúrico concentrado. Se establecieron 4 tratamientos diferenciados según el tiempo de exposición, en 15, 30, 45 y 60 minutos. Las semillas fueron sumergidas en agua durante 5 días antes de la siembra.

3.5. Evaluación de la germinación en condiciones ambientales contrastantes.

Con la intención de propiciar temperaturas mayores a las registradas en condiciones de umbráculo, donde la temperatura máxima y mínima registrada en el día alcanzó los 29,5 °C y 22,5 °C respectivamente, se procedió a establecer las siguientes condiciones de siembra:

- a) semillas en sacos de polipropileno (SP) sobre una plataforma de fibra de vidrio, donde fueron registradas temperaturas mínimas de 22°C y máximas de 38°C durante el día.
- b) semillas en la estufa en oscuridad a una temperatura constante de 35°C (E35°C).
- c) semillas sembradas directamente en el suelo (DS) y cubiertas con una lámina de aluminio sobre el área de siembra, donde se registraron temperaturas entre 21°C y 32°C.

Para cada condición fueron evaluadas 30 semillas, determinando porcentajes y tiempo de germinación. Los datos bajo estas condiciones se compararon con los de las condiciones de umbráculo.

3.6. Efecto del tamaño de las semillas sobre la germinación.

Considerando la alta variabilidad en el tamaño de las semillas de moriche recolectadas y asumiendo que una de las características que puede generar diferencias en la capacidad germinativa de una especie particular es el tamaño de la semilla, resulta pertinente considerar esta variable en la selección de semillas destinadas a planes de reforestación en morichales degradados. Para evaluar el efecto del tamaño de la semilla sobre la germinación se procedió a seleccionar y agrupar semillas de acuerdo a un intervalo de longitud que ofreciera diferencias significativas con relación al peso promedio de semillas de cada intervalo. De un total de 350 semillas medidas inicialmente con ayuda de un vernier, fueron tomadas 20 semillas de cada clase de tamaño, y en ellas se evaluó el porcentaje y tiempo de germinación posterior a 5 meses de la siembra. Las condiciones de siembra y mantenimiento de las semillas fueron las mismas descritas en el punto 3.4.

3.7. Evaluación de la tasa de crecimiento en plántulas.

La evaluación de la tasa de crecimiento de plántulas en invernadero o vivero resulta necesaria para estimar el tiempo de obtención de plántulas requeridas en los planes de restauración ecológica o incluso para la obtención de plántulas de tamaño particular que permita iniciar ensayos de toxicidad. Se realizaron mediciones quincenales de la elongación del vástago, desde la aparición del brote hasta la expansión de las hojas en 30 plántulas provenientes de semillas sin tratar.

3.8. Análisis estadísticos.

El tratamiento de datos consistió en calcular: a) porcentajes de germinación, b) tiempos de germinación, c) índices de germinación (IG), d) tasa de crecimiento de plántulas, e) elongación del sistema radicular, f) elongación del vástago, g) porcentaje de sobrevivencia y h) producción de biomasa.

Se verificó el ajuste de la distribución de los resultados mediante una representación grafica de tipo histograma, evaluando el coeficiente de asimetría y contrarrestando el ajuste de los datos a una distribución normal, a través de la prueba Shapiro-Wilks. Se probó la homogeneidad de varianzas, mediante el Test de Levene (Programa Past).

En los casos requeridos, los porcentajes fueron transformados al valor $\theta = \sqrt{\arcsen}$ (proporción) y el numero de días al valor $Z = \sqrt{n}$, para su normalización y posterior aplicación del Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía, evaluando la prueba a posteriori Tukey (Daniel, 2009). Cuando incluso con las transformaciones matemáticas no se cumplieron los supuestos para llevar a cabo el ANOVA, se utilizó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis (k-w), utilizando como prueba a posteriori comparaciones por pares de Mann-Whitney (Siegel, 1982)

Finalmente se procedió a evaluar la concentración que produce el 50% de inhibición sobre la germinación y mortalidad en plántulas o concentraciones efecto medias (EC50), concernientes a los ensayos de toxicidad, la cual fue calculada mediante el análisis Probit (USEPA, 1993).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis de las propiedades físicas y químicas del suelo utilizado en los ensayos.

4.1.1. Textura, capacidad de campo y contenido de materia orgánica.

La capacidad del suelo de adsorber y almacenar los compuestos presentes está directamente asociada a la textura del suelo (Cunningham y Ow, 1996; Deuel y Holiday, 1997). La proporción de las diferentes fracciones minerales del suelo (arena, limo y arcilla) puede influir sobre la permanencia y forma de acumulación y establecimiento del crudo en la mezcla suelo-hidrocarburo. Los sustratos arenosos permiten una mayor penetración del hidrocarburo en un menor tiempo (Deuel y Holliday, 1997; Pezeshki y col. 2000)

Los suelos utilizados en los ensayos presentaron textura arenosa (Tabla 1), lo que puede atribuirse a que las muestras fueron tomadas a orillas del río, donde constantemente se depositan sedimentos aluviales, particularmente arenas, debido a que son de mayor peso y tamaño, en comparación con las arcillas y el limo. Probablemente la pequeña fracción de limos y arcillas de las capas subsuperficiales del suelo contenidas en la matriz arenosa sean removidos con los cambios del nivel del agua, garantizando el movimiento continuo del agua de escorrentía típico en ecosistemas de morichal (González, 1987). La textura de estos suelos concuerda con lo reportado por COPLANARH (1974) y González (1987), quienes han encontrado para los valles de morichal, suelos con textura franco- arcillosa hasta arenosa agrupados en los órdenes Histosoles y Entisoles

El contenido máximo de almacenamiento de agua (capacidad de campo) fue de 40%, considerada alta, por tratarse de un suelo arenoso, sugiriendo que el diámetro de las partículas

de arena no debe ser mucho mayor que 0.02 mm. Generalmente este tipo de suelos, se consideran pertenecientes al régimen de humedad áquico, ya que en algún momento del ciclo anual se encuentran saturados de agua. También han sido definidos como suelos hídricos, aquellos que por sus condiciones de mal drenaje están saturados, inundados o estancados a lo largo de la estación de crecimiento, y pueden desarrollar condiciones anaeróbicas que conllevan el crecimiento y la regeneración de vegetación hidrófila (Mausbach y Parker, 2001)

Tabla 1. Proporción de las fracciones minerales del suelo

Fracción mineral	%
Arena	94,8
Limo	2,2
Arcilla	3

Con relación a la materia orgánica, el hecho que la mayor parte de la alta producción primaria de los morichales no es utilizada por los herbívoros condiciona su acumulación en forma de hojarasca, frutos y troncos sobre la superficie del suelo. Adicionalmente, los bajos contenidos de oxígeno del sustrato edáfico determinan una reducida tasa de descomposición anual de la materia orgánica. El resultado neto es la formación de un sustrato edáfico con un horizonte superior orgánico (González, 1987).

Los resultados obtenidos arrojaron 1,47% de carbono orgánico, que representa 2,53% de materia orgánica en las muestras de suelo analizadas. Aun cuando las muestras de suelo recolectadas pertenecían al estrato superficial, el hecho que fueron tomadas en zonas aledañas al cauce del río, explica que el contenido orgánico no fuera mayor, debido posiblemente al arrastre del material orgánico que sucede en ciertas condiciones y que se traducen en bajos contenidos de materia orgánica. En todo caso, las características del suelo indican, por su textura arenosa y por encontrarse en la ribera del curso de agua, que pertenecen orden Entisol, suborden Fluvent, característico de suelos que se desarrollan en los márgenes de los ríos.

En general estos suelos se caracterizan por tener un bajo contenido de oxígeno, debido a que los espacios porosos se encuentran ocupados por agua, reduciendo la actividad biológica y la descomposición aeróbica de los sustratos orgánicos, limitando la transformación o estabilización de los contaminantes, indicando que los suelos anegados o mal drenados mantienen los hidrocarburos por mas tiempo que aquellos que no lo están. Sin embargo, la textura arenosa propicia el flujo transversal del agua junto al contaminante, facilitando el lavado del contaminante de las zonas afectadas, pero induciendo a una posible contaminación en zonas aledañas no afectadas (Zamora y col, 2009). Al respecto el CIDIAT (1985), reportó que el tipo de suelo presente en los morichales, determina una tasa de infiltración y drenaje profundo del agua de lluvia, que no es interceptada por la vegetación y que no es retenida en el espacio poroso capilar relativamente reducido de los suelos, indicando que toda transformación que cambie las condiciones de infiltración en la sabana y altere sustancialmente el nivel del acuífero puede afectar al morichal.

4.1.2. pH, Cationes Intercambiables, Fosforo disponible y Nitrógeno total.

El pH afecta el crecimiento de las plantas, alterando la solubilidad y por lo tanto la biodisponibilidad de la mayoría de los nutrientes y constituyentes del suelo, que pueden afectar la actividad biológica (Pivetz, 2001).

Los suelos empleados en el ensayo resultaron ácidos, característicos de suelos de sabana, con un pH promedio de 5,6. Sin embargo, hay que destacar que este resultado es una medición puntual, y que las periódicas inundaciones a la que están sometidos estos ecosistemas, pueden producir cambios temporales en la disponibilidad de oxígeno, que a su vez afectan las reacciones de oxido-reducción y el pH (Mitsch y Gosselink, 2000), como lo demuestran las variaciones del pH y los componentes químicos en el tiempo encontrados por Peña (2004), en los suelos de la cuenca alta del Río Tigre.

Los suelos inundados en donde se desarrollan los morichales presentan un bajo contenido de oxígeno (Zamora y col, 2009). Particularmente, el moriche parece estar adaptado a niveles de oxígeno disuelto bajos, ya que sus prolongaciones radiculares verticales con geotropismo negativo (neumatóforos), facilitan la captación del oxígeno (CIDIAT, 1985), lo que indica además de muchas otras consideraciones, que esta especie no puede ser fácilmente remplazada en un posible proyecto de repoblación vegetal.

Las bajas concentraciones de nitrógeno y fósforo, aunado a la poca capacidad de intercambio catiónico de las muestras de suelos analizadas (Tabla 2), evidencian su poca fertilidad, coincidiendo con las características propias de una alta proporción de los suelos ubicados en la región fisiográfica de los Llanos Venezolanos (Hernández-Valencia y López-Hernández, 1999).

Tabla 2. Propiedades químicas de las muestras de suelo.

pH	5,6
Calcio (cmol/Kg)	0,54
Potasio (cmol/Kg)	0,23
Magnesio (cmol/Kg)	0,23
Aluminio intercambiable (cmol/Kg)	0,00
Hidrogeno intercambiable (cmol/Kg)	0,11
Acidez total	0,11
Fosforo mg/Kg	3,01
Nitrógeno total (%)	0,008

4.2. Efecto de la contaminación por petróleo pesado en el suelo sobre la germinación en semillas de *Mauritia flexuosa*.

4.2.1. Germinación.

La germinación de la semilla puede ser inhibida ante la presencia de sustancias tóxicas, específicamente se puede afectar la división celular, ya sea por retardo en el desarrollo de mitosis o alteración del proceso de alargamiento de las estructuras germinativas. Por esta razón, la fitotoxicidad de un compuesto puede ser determinada a través de la evaluación de la germinación de semillas (Adam y Duncan, 2002).

Las pruebas de fitotoxicidad fueron establecidas para evaluar el potencial efecto tóxico de sustancias y medios contaminados, utilizando especies modelos que actúan como bioindicadores, mediante métodos estandarizados. Estas pruebas han sido diseñadas por organismos de protección ambiental, como OECD (1984) y USEPA (1989), los cuales consideran como criterio diagnóstico la germinación de las semillas y el desarrollo de las plántulas. Su uso ha resultado pertinente para determinar el efecto y la tolerancia de un contaminante particular sobre una especie de interés. Las principales especies utilizadas en estas evaluaciones son gramíneas y plantas cultivables de ciclo corto, resultando escasos los trabajos concernientes a plantas forestales de ciclo de vida larga, como el moriche.

La Figura 1 muestra el efecto de diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado sobre la germinación de semillas de moriche, en donde se evidencia que el porcentaje de semillas germinadas no muestra diferencias significativas en el intervalo de 0 a 8% de hidrocarburo pesado, luego decae el porcentaje de germinación a una concentración de 16% de hidrocarburo pesado y finalmente a una concentración del 32%, el porcentaje de germinación es nulo. La ausencia de diferencias significativas en los suelos contaminados entre 0,25% y 8% y el suelo no contaminado, indica una baja sensibilidad de respuesta al agente tóxico. Ello sugiere que la germinación de esta especie no debería ser considerada en pruebas de toxicidad para diagnosticar el posible efecto de un contaminante como el petróleo, ni como indicador del efecto de un derrame de petróleo sobre un ecosistema de morichal.

Una de las posibles razones del efecto inhibitor del hidrocarburo sobre la germinación del moriche se debe al carácter hidrofóbico del crudo pesado causado por la presencia del petróleo alrededor de las semillas generando una barrera física, reduciendo la incorporación

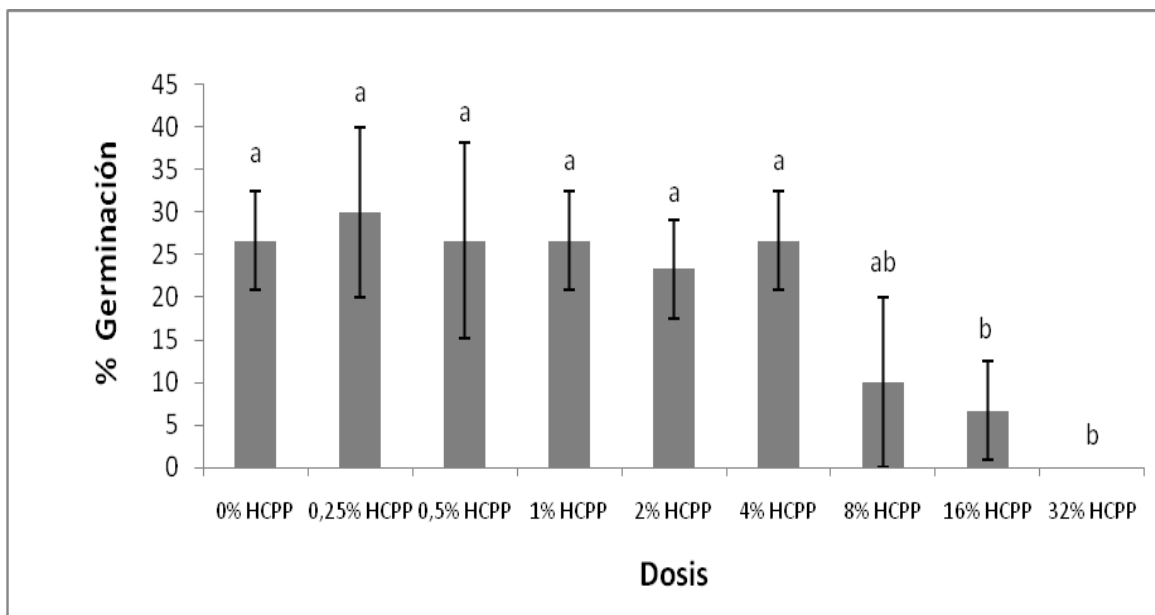


Fig. 1. Porcentaje de germinación (media \pm d.e) en semillas de *Mauritia flexuosa* sembradas en diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP) en el suelo.

Medias con ninguna letra en común son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

de agua y oxígeno, afectando el intercambio gaseoso (Amariki y Onofeghara, 1984; Atlas, 1991). Además, la penetración del hidrocarburo en las semillas puede afectar la vida y el crecimiento del embrión durante la germinación. Sin embargo, las semillas de moriche, presentan una testa cutinizada prácticamente impermeable y el crudo pesado es altamente viscoso, conformado por una proporción mayor de fracciones de resinas y asfaltenos que de aromáticos y saturados; estas características, le confieren un menor efecto tóxico que por ejemplo el crudo liviano. Estas consideraciones junto a otros posibles atributos intrínsecos del moriche (p.e. alta reserva en el endospermo), explican la ausencia de efecto en la germinación en dosis de hasta 8% de petróleo pesado. A concentraciones superiores (16-32%), el mayor contenido de hidrocarburo en el suelo puede convertirse en una barrera más efectiva en la

incorporación de agua y nutrientes y los tejidos tienen más riesgo a efectos tóxicos por exposición a mayores concentraciones de hidrocarburos.

Uno de los aspectos más importantes a tomar en cuenta en los ensayos de toxicología y ecotoxicología es la relación entre la concentración de un compuesto químico a la cual se expone un organismo y el consecuente efecto nocivo que le produce. Esta relación, conocida como la relación dosis-respuesta, constituye la base para la evaluación del peligro y el riesgo generado por las sustancias químicas en el medio ambiente.

Como resultado del análisis de los datos de un diseño para estimar una relación dosis-respuesta, lo que se pretende obtener son las estimaciones de los parámetros del modelo seleccionado para relacionar las variables, y posteriormente, determinar los valores de la concentración del compuesto tóxico que causan un grado de efecto sobre los organismos expuestos. Entre estas evaluaciones, la más utilizada es la que se conoce como concentración letal, efectiva o inhibitoria 50 ($CL_{50}/CE_{50}/CI_{50}$), que es la concentración que produce la respuesta esperada sobre el 50% de los organismos expuestos, estimada mediante el análisis Probit.

Mediante la transformación de las concentraciones de hidrocarburo a una escala logarítmica y conociendo el porcentaje de efecto sobre la germinación representado en unidades Probit (Tabla 9) fue posible obtener una curva de tipo sigmoidea que muestra una relación dosis- respuesta (Figura 2) que permite estimar la concentración a la cual se genera el 50% de inhibición sobre la germinación por efectos del contaminante, representado en la gráfica mediante el antilogaritmo del valor correspondiente al eje x de la línea trazada desde

un Probit 5,0. Para el moriche el CE50 fue de 5,01187% de hidrocarburo de petróleo pesado en el suelo que representan 50,1187 g de crudo por Kg de mezcla suelo-hidrocarburo.

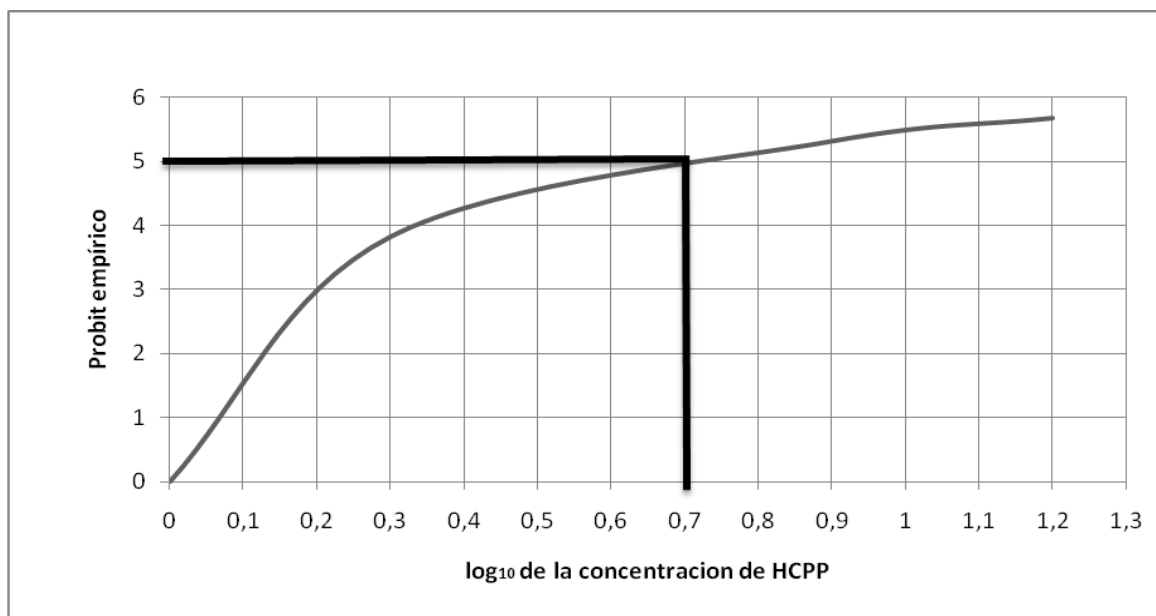


Fig. 2. Relación dosis respuesta, mediante análisis Probit.

La línea que corta la curva corresponde a la concentración que genera el 50% de inhibición (CE₅₀) sobre la germinación en semillas de *Mauritia flexuosa*, por efecto del crudo.

4.2.2. Tiempo de germinación

El crudo pesado tiene una alta persistencia en el ambiente debido a su baja solubilidad, baja tasa de evaporación y lenta degradación, garantizando su permanencia en el sedimento y potencial efecto durante los 5 meses de ensayo. Sin embargo, los resultados obtenidos (Tabla 3) demuestran la ausencia de diferencias estadísticamente significativas con relación al tiempo de germinación en semillas de moriche para las diferentes dosis de petróleo.

Tabla 3. Tiempo de germinación (media \pm d.e) en semillas de *Mauritia flexuosa*, sembradas en diferentes concentraciones de petróleo pesado.

Dosis	Tiempo de Germinación (días)
0% HCPP	117,7 \pm 12,1 a
0,25% HCPP	118,1 \pm 13,4 a
0,5% HCPP	114,5 \pm 13,9 a
1% HCPP	101,8 \pm 24,3 a
2% HCPP	107,1 \pm 15,9 a
4% HCPP	107 \pm 14,3 a
8% HCPP	128,3 \pm 7,0 a
16% HCPP	135 \pm 0,0 a
32% HCPP	*

Medias seguidas con la misma letra indica ausencia de diferencias significativas. ($p > 0,05$; K-W). * No se obtuvo germinación.

4.2.3. Índice de germinación.

Además de conocer el efecto de un contaminante sobre el número de semillas germinadas, resulta pertinente tomar en cuenta el crecimiento de brotes y plántulas posterior a la germinación que permitan predecir de manera integrada la capacidad germinativa y posibilidad de establecimiento de las futuras plantas. Una manera eficiente de integrar estos parámetros es mediante el cálculo del índice de germinación.

Generalmente el índice de germinación, además del número de semillas germinadas, considera el promedio de elongación de la radícula, sin embargo, en nuestro caso resulta conveniente utilizar un parámetro mas robusto, ya que en el moriche la aparición de la radícula ocurre tiempo después que el pecíolo ha alcanzado un tamaño considerable. En tal sentido la elongación del vástago es un mejor estimador que la raíz. En la Figura 3 se muestran los resultados de la elongación del vástago considerando la elongación del pecíolo cotiledonar y la plúmula en las diferentes dosis de crudo luego de 5 meses de inicio del ensayo.

La amplia variación en cada concentración evaluada, conduce a una ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$) entre dosis. Ello sugiere que es posible la existencia de factores adicionales al efecto de los hidrocarburos, como variaciones fenotípicas de las semillas y diferencias en el lapso de tiempo ocurrido entre la germinación y las mediciones para cada individuo. Particularmente, a diferencia de los resultados ampliamente difundidos sobre el efecto del petróleo sobre gramíneas y plantas cultivables, herbáceas o arbustivas, donde el tamaño de las semillas es considerablemente inferior a plantas leñosas como el moriche, los resultados pueden indicar que la fuente de reserva de estas ultimas podría independizar a las primeras etapas de desarrollo de la plántula de fuentes de nutrimentos externos en cuyo caso el impedimento mecánico, ejercido por la barrera física de crudo pesado, no incide directamente sobre el desarrollo del vástago.

El índice de germinación (Figura 4), muestra al igual que el porcentaje de germinación, reportado anteriormente, ausencia de diferencias significativas ($p < 0,05$) en el intervalo de 0% a 8% de petróleo pesado. Ello demuestra que la elongación del vástago no influyó drásticamente sobre este índice.

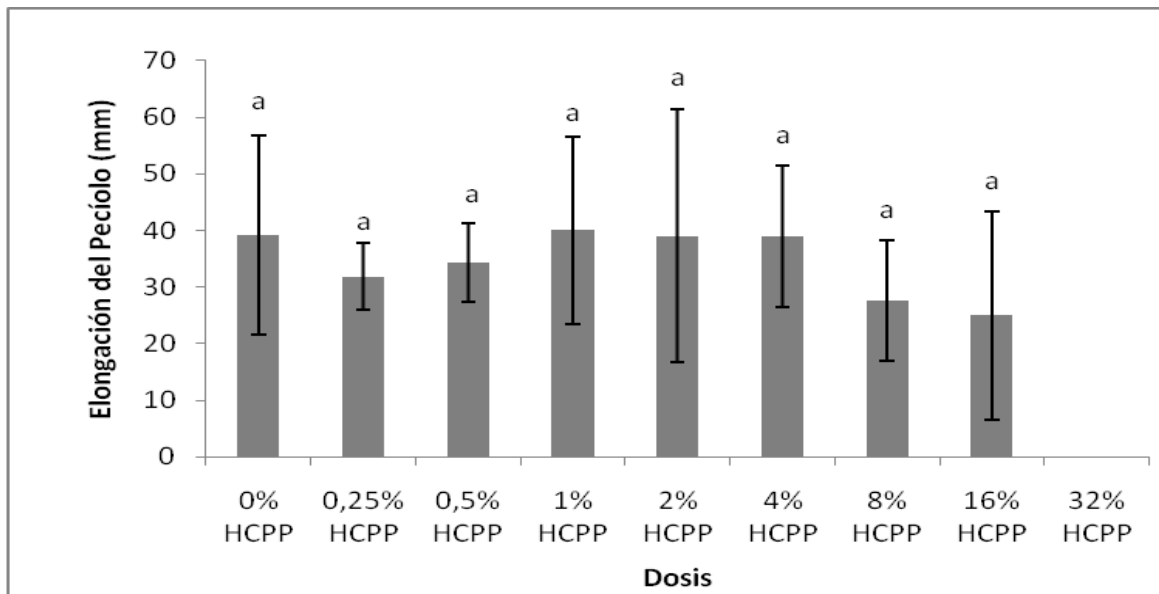


Fig. 3. Elongación del pecíolo (media \pm d.e) en plántulas de *Mauritia flexuosa*, posterior a 5 meses de la siembra de semillas en diferentes concentraciones de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP) en el suelo.

Medias seguidas con la misma letra indica ausencia de diferencias significativas ($p > 0,05$). En 32% HCPP no se obtuvo germinación.

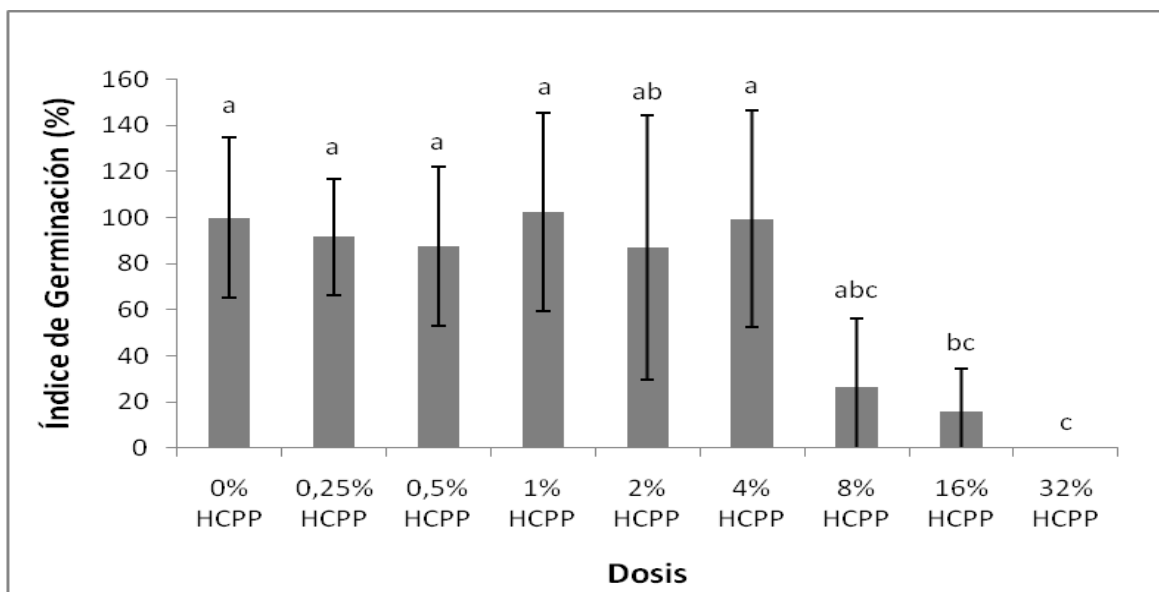


Fig. 4. Índice de germinación en semillas de *Mauritia flexuosa* sembradas en diferentes concentraciones de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP) en el suelo.

Medias con ninguna letra en común son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

4.3. Efectos de la contaminación por petróleo pesado en el suelo sobre la sobrevivencia y desarrollo de plántulas en *Mauritia flexuosa*.

Una vez que el hidrocarburo alcanza el suelo producto de un derrame, puede sufrir diferentes procesos, como son: a) su transformación en diferentes compuestos, mediado o no por la actividad biológica, b) retención por las partículas del suelo y c) movilización fuera del perfil del suelo a las aguas subterráneas (Zamora y col, 2009). La contaminación del suelo por hidrocarburos de petróleo tiene un efecto adverso sobre las comunidades vegetales (Adam y Duncan, 2002). El petróleo puede adherirse a la superficie de raíces y semillas, reduce la capacidad para absorber agua y oxígeno (Mathew y col. 2006). La rotura de tuberías, fosas y los reventones de pozos pueden impregnar a la vegetación de hidrocarburo, provocando una disminución de la tasas de respiración y fotosíntesis (Xu y Johnson, 1995).

4.3.1. Sobrevivencia de plántulas.

Dosis de hasta 32% de petróleo pesado no afectaron significativamente ($p > 0,05$) la sobrevivencia de plántulas de moriche (Figura 5), mientras en la máxima concentración de hidrocarburo empleada (64%), la mortalidad alcanzó 83,33%, superando la dosis letal. Esto se demuestra con la CE_{50} obtenida mediante análisis Probit, reportada en la Figura 6, en donde se encuentra que la concentración de hidrocarburo de petróleo pesado en el suelo que genera el 50% de mortalidad (CE_{50}) sobre plántulas de moriche, corresponde a una concentración de 39,81%, equivalente a 398,1 g de hidrocarburo / Kg de mezcla suelo-hidrocarburo.

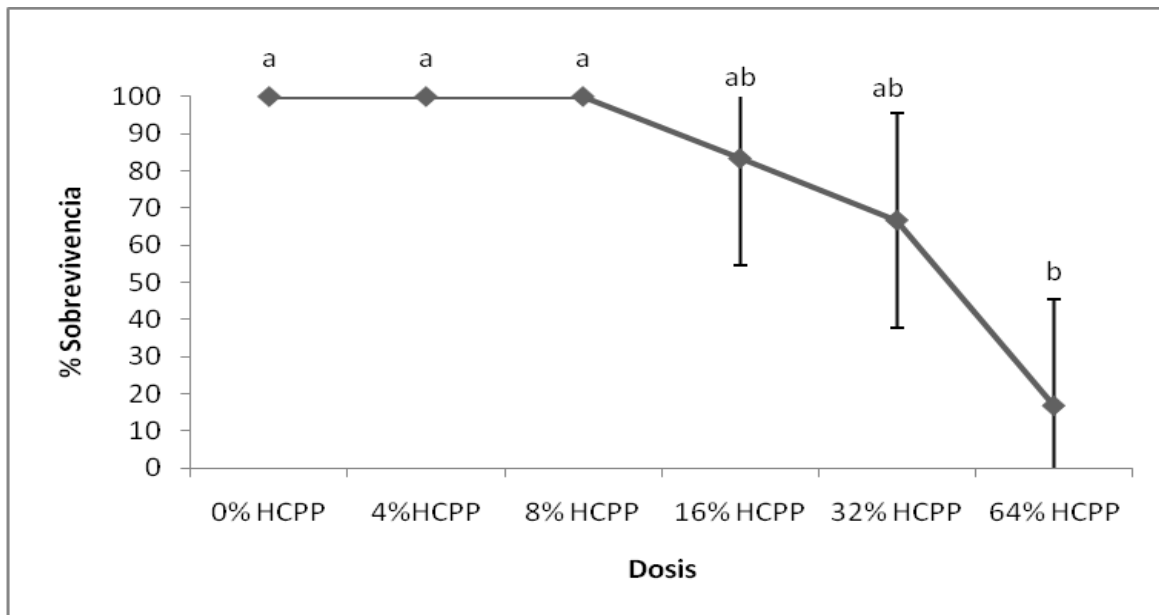


Fig. 5. Porcentaje de sobrevivencia en plántulas de *Mauritia flexuosa*, expuestas a diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP), durante dos meses. Medias con ninguna letra en común son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Es importante destacar que la mortalidad en todos los casos se generó luego de un mes de exposición, lo cual difiere del tiempo estimado en la literatura para este tipo de pruebas, el cual comúnmente varía entre 7 y 21 días aproximadamente (EPS, 2007). Esto se debe a que los ensayos de toxicidad han sido empleados principalmente en plantas herbáceas, con rápido crecimiento y que responden rápidamente a los efectos de sustancias tóxicas. Un aspecto adicional podría ser el tamaño de las semillas, siendo mucho más grandes las semillas de moriche que muchas de las semillas utilizadas para estos fines (p.e. lechuga, pastos), presentando una mayor reserva nutricional para el desarrollo de la plántula. Incluso, como se verá más adelante, existe una amplia variación en el tamaño de las semillas de moriche que pudo haber incidido en los resultados de mortalidad, si se considera que la probabilidad de

sobrevivencia de plántulas provenientes de semillas grandes puede ser mayor que la de semillas pequeñas (Parolin, 2001). Esto puede ser una ventaja en hábitats estresantes (Harper, 1977), como se podría considerar a los suelos contaminados con hidrocarburos, en donde la contaminación puede generar limitaciones para la incorporación de oxígeno, agua y nutrimentos.

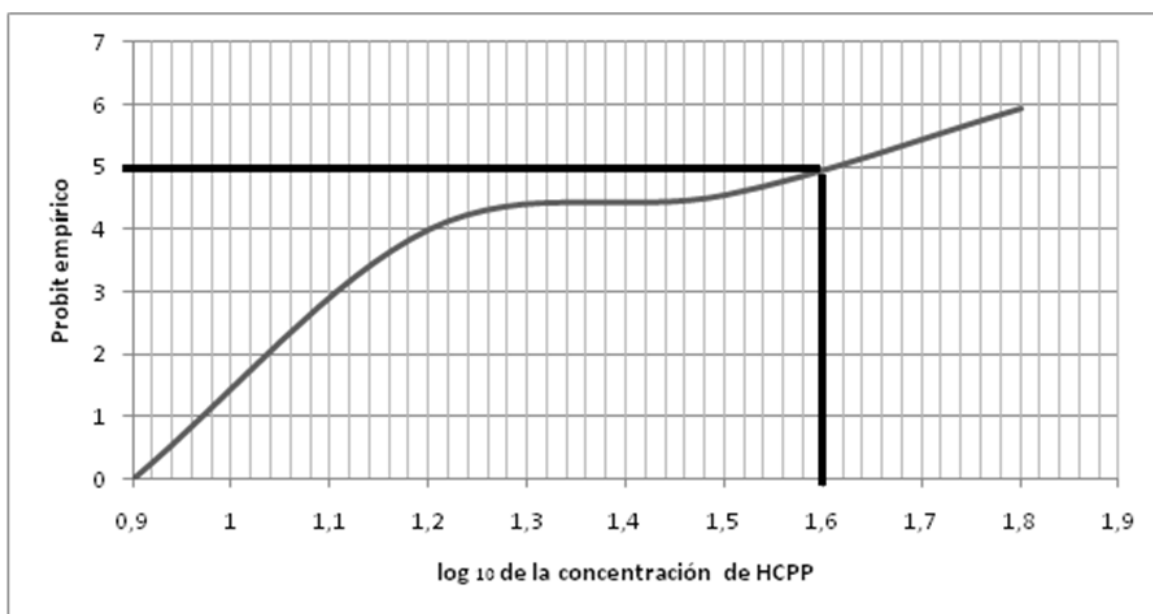


Fig. 6. Relación dosis respuesta, mediante análisis Probit.

La línea que corta la curva corresponde a la concentración que genera el 50% de mortalidad (CE50) en plántulas de *Mauritia flexuosa* por efecto del crudo.

Los resultados presentados hasta el momento indican que las plántulas de moriche presentan una baja sensibilidad de respuesta y un amplio intervalo de tolerancia en comparación con las plantas comúnmente utilizadas para estos propósitos. En consecuencia resultaría inapropiado utilizarla como bioindicador de toxicidad para el crudo pesado, y sería recomendable el uso de otras plantas más sensibles a la contaminación y que puedan ser

utilizadas como indicadores de estos eventos. A este respecto, Bevilacqua y González (1994), estudiaron los cambios en la composición florística y otros atributos comunitarios de un morichal, luego de tres años de haber sido afectados por derrame de hidrocarburo y en donde se utilizó la quema como herramienta para la limpieza del hidrocarburo contenido en la vegetación. Los autores encontraron que el derrame no produjo efectos adversos sobre los componentes arbóreos, arbustivos, palmas y hierbas gigantes en estado juvenil y adulto. Sin embargo, se observó mortalidad de algunas formas de crecimiento herbáceas. Mientras la acción combinada de derrame de petróleo y posterior quema, produjo una destrucción importante del morichal, así como de los elementos arbóreos acompañantes. Con base a estos resultados, recomendaron que en caso de derrames se evitara el uso del fuego y se implementaran medidas dirigidas a la recuperación, como la eliminación de los ejes carbonizados en pie y ensayos de programas de reforestación con *Mauritia flexuosa*.

Uno de los objetivos de este estudio es determinar el nivel de contaminación del suelo por petróleo pesado que permita una propagación efectiva del moriche en actividades de repoblación vegetal de morichales afectados por derrame. Considerando los resultados de la sección anterior, relacionados con el efecto sobre la germinación, resulta conveniente recomendar que para derrames que superen los 50 g de petróleo por kilogramo de suelo-crudo, los planes de restauración ecológica, deben estar orientados mas a la siembra de plántulas que a la siembra de semillas, considerando estrategias que permitan aumentar las probabilidades de éxito y el tiempo requerido para su obtención, lo cual se abordará mas adelante. En todo caso, las CL50 tanto para plántulas como semillas determinadas en este estudio, superan al límite de limpieza que deben alcanzar los suelos contaminados con hidrocarburos, el cual es

de 1% o 10 g de aceites y grasas por cada kg de suelo (Decreto 2635; Republica de Venezuela, 1998).

4.3.2. Desarrollo de plántulas.

Conocer los efectos fitotóxicos que provoca un compuesto permite valorar y determinar los factores de riesgo asociados a su exposición, así como el grado de tolerancia o sensibilidad de la planta examinada. Considerar únicamente la mortalidad como criterio del efecto, brinda una información parcial de las consecuencias del contaminante sobre la planta evaluada. En tal sentido resulta pertinente evaluar otros parámetros, como el desarrollo de la plántula, que permita predecir el potencial efecto del agente toxico sobre el crecimiento del individuo, particularmente en dosis donde el contaminante no genera mortalidad. Aun cuando las pruebas de toxicidad aguda fueron diseñadas en principio para determinar el efecto del toxico sobre la sobrevivencia, el tiempo transcurrido para evidenciar respuesta de mortalidad en plántulas de moriche fue posterior a un mes en la máxima dosis empleada, permitiendo estimar otros indicadores, vinculados al crecimiento de la plántula.

4.3.2.1. Tasa de crecimiento del vástago.

Al utilizar como criterio los cambios en la elongación del vástago, durante los dos meses de exposición de las plántulas a diferentes concentraciones de crudo pesado, es posible obtener la curva presente en la Figura 7, la cual permite evidenciar que el mayor crecimiento se registro en plántulas sembradas en suelo limpio, con una elongación de 7,3 cm, en contraste

con el intervalo de concentración de 16% y 32% (donde se encuentra la dosis letal), con una elongación de 2,18 cm y 0,9 cm respectivamente. Es interesante destacar que en el intervalo de concentraciones de 16 y 32% no se registró crecimiento después de un mes de inicio del ensayo, aun cuando los individuos no mostraban otros signos evidentes que afectaran su desarrollo. A este respecto Lieth y Markert (1990), destacan que este tipo de contaminación pueden impedir o retardar el crecimiento de la vegetación sobre el área afectada, lo cual dependerá de la magnitud del impacto, como también de los constituyentes y cantidad de petróleo derramado, condiciones ambientales y de la especie de planta (Brissio, 2005). DeOng y col (1927; citado en: Brissio, 2005) señalan que se pueden diferenciar los daños producidos por la contaminación con hidrocarburos, entre aquellos daños agudos o rápidos causados por los petróleos livianos y los daños crónicos o lentos resultado de los petróleos pesados.

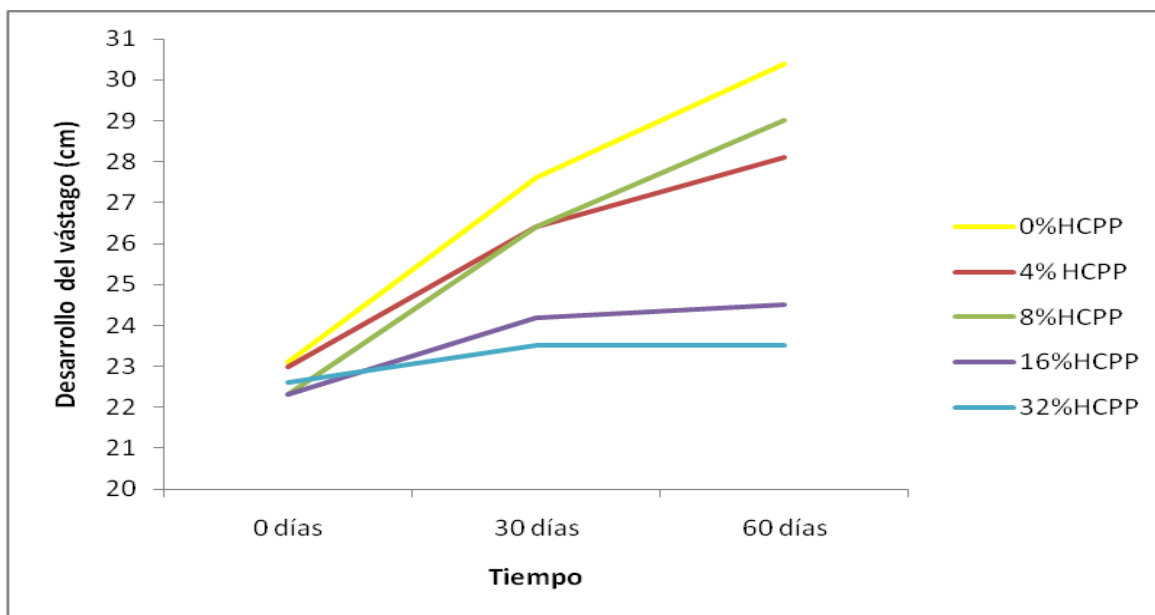


Fig. 7. Desarrollo del vástago en plántulas de *Mauritia flexuosa*, expuestas a diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP), durante los dos meses de ensayo.

4.3.2.2. Longitud máxima del vástago y la raíz.

El petróleo empleado en el ensayo pudo haber generado la formación de una película hidrofóbica alrededor de la raíz, lo cual posiblemente limitó la entrada de agua. Según Mathew y col (2006), esto provoca un estrés hídrico que afecta algunas etapas del crecimiento, adicionales a los posibles efectos tóxicos del petróleo. Sin embargo, según Plice (1948; citado por: Brissio, 2005), el daño que el petróleo produce, es debido mayoritariamente al impedimento de la raíz para obtener suficiente agua y oxígeno, muy poco es debido a la toxicidad.

En la Tabla 4, se muestran los resultados de las mediciones de la longitud máxima de la parte aérea (vástago) y raíz principal en las diferentes dosis de petróleo empleadas. La longitud radical no mostró cambios significativos ($p < 0,05$) en las diferentes concentraciones del contaminante, mientras que la elongación del vástago fue significativamente mayor en plántulas sembradas en suelo limpio que en suelos contaminados con 16% y 32%. Según Pivetz (2001), la longitud de una planta puede llegar a variar en la misma especie bajo condiciones diversas de fertilidad, contenido de agua, estructura del suelo y concentración del contaminante.

4.3.2.3. Peso total

Los efectos adversos en el crecimiento se pueden reflejar en la biomasa del tejido vegetal, mediante la determinación del peso. La Figura 8, muestra el peso total (vástago + raíz) al final del ensayo, para diversas dosis del contaminante, donde se registró que el peso total de las plántulas, correspondientes al tratamiento control, fue significativamente superior

Tabla 4. Longitud del vástago y raíz principal (media \pm d.e), en plántulas de *Mauritia flexuosa*, expuestas a diferentes dosis de petróleo pesado, durante dos meses.

Tratamiento	Longitud del vástago (cm)	Longitud radical (cm)
0% HCPP	30,4 \pm 3,8 a	19,6 \pm 5,7 a
4% HCPP	28,1 \pm 3,6 ab	20,5 \pm 6,2 a
8% HCPP	29,0 \pm 3,1 a	21,5 \pm 3,2 a
16% HCPP	24,5 \pm 1,3bc	16,6 \pm 5,8 a
32% HCPP	23,5 \pm 1,2 c	15,8 \pm 4,7 a

Medias dentro de la misma columna con ninguna letra en común indican diferencias estadísticamente significativas. ($p < 0,05$; K-W).

($p < 0,05$) a los tratamientos con 16% y 32% de petróleo pesado, sin considerar 64% donde solo una plántula sobrevivió. La disminución en el crecimiento de las plantas puede deberse a factores variados como: a) el agotamiento del oxígeno generado con el incremento de la actividad microbiana, b) la interferencia física que limita la incorporación de agua y nutrientes y c) la eventual toxicidad por el azufre y manganeso durante la descomposición de los hidrocarburos (TPHCWG, 1998; citado en: Brissio, 2005).

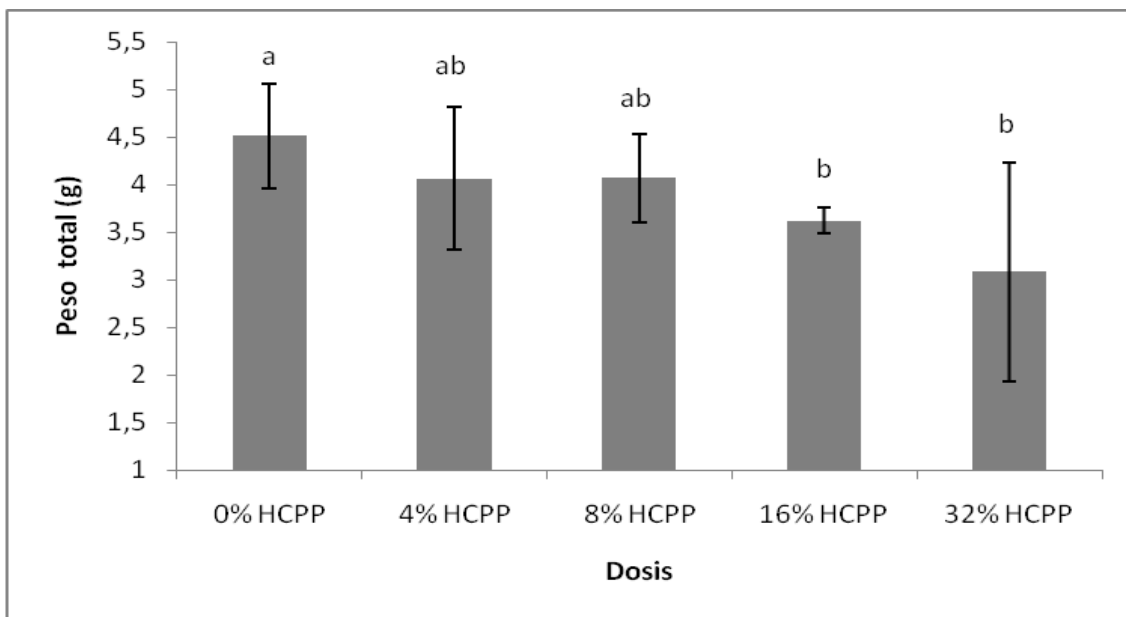


Fig. 8. Peso seco total (media \pm d.e) en plántulas de *Mauritia flexuosa*, expuestas a diferentes dosis de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP). Medias con ninguna letra en común son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

4.3.3.4. Peso parcial y relación vástago/raíz.

El peso radicular no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre dosis, mientras el peso del vástago se vio afectada significativamente ($p < 0,05$) a una concentración de 32%. (Tabla 5), cuyo peso fue de 58% con relación a la obtenida en el control.

Se estimó la relación vástago/raíz con la intención de evaluar en cual órgano de la planta afectó con mayor intensidad la adición de hidrocarburo en el suelo (Tabla 5). Los resultados muestran que la menor relación ocurre en la máxima dosis evaluada, sugiriendo una posible translocación preferencial de asimilados a la producción de raíces en suelos contaminados. Según Mager (2002), en presencia de hidrocarburos las plantas dirigen los

asimilados a la producción de raíces, como un mecanismo que podría permitir superar las limitaciones en el intercambio gaseoso, toma de nutrimentos y agua.

Tabla. 5. Peso seco de cada fracción (media \pm d.e) y Relación Vástago/ Raíz, en plántulas de *Mauritia flexuosa*, expuestas a diferentes dosis de petróleo pesado durante dos meses.

Tratamientos	Peso seco del vástago (g)	Peso seco radical (g)	Relación vástago / raíz
0% HCPP	2,10 \pm 0,25 a	2,40 \pm 0,56 a	0,88
4% HCPP	1,82 \pm 0,20 a	2,24 \pm 0,67 a	0,81
8% HCPP	1,88 \pm 0,20 a	2,19 \pm 0,38 a	0,86
16% HCPP	1,58 \pm 0,56 ab	2,04 \pm 0,46 a	0,77
32% HCPP	1,22 \pm 0,35 bc	1,87 \pm 0,82 a	0,65

Medias dentro de la misma columna con ninguna letra en común indican diferencias estadísticamente significativas. ($p < 0,05$; K-W).

Varios autores han destacado la alta capacidad de recuperación del moriche bajo altas concentraciones de hidrocarburo en el suelo. Al respecto, Carrillo y col. (2007; citado en: Zamora y col. 2009), compararon parámetros tales como intercambio gaseoso, potencial hídrico, contenido foliar de clorofila, proteínas solubles, carbohidratos solubles y almidón de individuos de *Mauritia flexuosa* en dos áreas afectadas por derrames ocurridos hace 2 (Muscar) y 16 años (MUC-21), respecto a un área no afectada (prístina). Los resultados

mostraron que la fotosíntesis, la transpiración y el contenido de proteínas solubles fueron superiores en el morichal prístino. El contenido de clorofila no mostró diferencias significativas entre las localidades. Los contenidos de carbohidratos no estructurales (carbohidratos solubles + almidón) indicaron que los individuos de las áreas no afectadas y en donde el derrame ocurrió hace 16 años, tienen un mayor potencial de crecimiento respecto a aquellos en donde el derrame fue más reciente (2 años). Esto último indica el potencial de *M. flexuosa* para recuperarse a los impactos de derrames de hidrocarburos y su uso en labores de reforestación. Por su parte, Quilice y col. (2007), evaluaron el efecto de la remoción del suelo e incorporación de gramíneas, como técnica de restauración de morichales, luego de un derrame de 36.000 barriles de crudo que afectó 27.000 ha en 1991 y otro de menor magnitud, ocurrido en 2004. Los autores determinaron el índice de afectación, mediante evaluación de la composición y estructura de la vegetación e indicaron una capacidad regenerativa natural de los morichales en aquellos sitios de mínima intervención humana, y poca o nula, en aquellos sitios donde se removió el suelo y se incorporó gramíneas, presumiblemente por alteración del nivel freático, demostrando la capacidad regenerativa natural de los morichales y sugirieron que los planes de restauración ecológica de morichales deben estar orientados a técnicas de restauración asistida, evitando la intervención de la estructura del suelo. Con relación a este último aspecto, Zamora y col. (2009), reportaron que en un morichal ubicado en la quebrada Camasa, del Campo Socorro, en el Edo. Anzoátegui, los procesos de saneamiento, mediante remoción del suelo superficial, generaron una fuerte erosión regresiva, provocando el desplome de la vegetación.

4.4. Evaluación de la germinación en *Mauritia flexuosa*, bajo diferentes tratamientos y condiciones.

4.4.1. a. Germinación en semillas tratadas.

La implementación de técnicas que permitan favorecer la germinación en *Mauritia flexuosa* resultan útiles para aumentar las probabilidades de éxito en los planes de repoblación vegetal, como estrategia de restauración ecológica de morichales degradados por derrames de petróleo.

Las palmas, en general, son principalmente propagadas por semillas, cuya germinación se caracteriza por ser variable entre especies, relativamente lenta, errática y baja. Sin embargo, a través del manejo adecuado de su semilla se puede optimizar el tiempo de la germinación y la emergencia (Broschat, 1994)

En condiciones naturales, se ha reportado que del total de semillas de moriche que caen al suelo, solo una fracción logra germinar, lo cual depende de la cantidad de unidades dispersadas, de la frecuencia de aparición de lugares adecuados para la germinación, de la incidencia de muerte y del posible estado de latencia de las semillas (Ponce, 2000). Se puede considerar como un lugar adecuado, la zona en la cual una semilla puede proveerse del estímulo requerido para romper con la latencia, las condiciones requeridas para que el proceso de germinación proceda y los recursos que son consumidos en el curso de la germinación (Harper, 1977). Según Peña (2004), la relación entre el reclutamiento y la producción de frutos sugiere que el porcentaje de germinación es bastante bajo, e independiente de la densidad de frutos. Ello puede deberse entre otros factores a la pérdida de la viabilidad de las semillas (Gordon y col, 2000).

Presumiendo que la consistencia dura de la testa en semillas de moriche es un factor mecánico limitante de la germinación, se evaluaron diversos tratamientos pre-siembra destinados a disminuir el impedimento físico generado por la cubierta, tomando en cuenta, tanto la cantidad como la velocidad de la germinación y evaluando la sobrevivencia de los brotes procedentes de semillas germinadas.

El porcentaje de germinación obtenido para los distintos tratamientos se muestra en la Figura 9. Se evidencia que la germinación en el tratamiento control, la cual registró un 23,33% de germinación, solo fue superada por el tratamiento de escarificación por abrasión en la zona del opérculo con 43,33%. Ello demuestra que la escarificación en un punto único resulta suficiente para favorecer la imbibición, intercambio de gases y posterior germinación. Se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre este último y el resto de los tratamientos a excepción del correspondiente a remojo en agua corriente.

Resultados similares se obtuvieron con la escarificación por abrasión en *Roystonea oleracea* (palma real venezolana o chaguaramo) y en *Syagrus stenopetala*, palmera endémica de Venezuela (Maciel y Briceño, 2009).

Los tratamientos correspondientes a la escarificación química con ácido sulfúrico concentrado presentaron los valores mas bajos de germinación con relación al resto de los tratamientos, mostrando además una disminución del porcentaje de germinación con el aumento en el tiempo de exposición al ácido. Ello parece estar asociado al daño que ocurre sobre las semillas, el cual incrementa progresivamente con el tiempo utilizado durante la escarificación química (Figura 10), alcanzando 76,67% en semillas embebidas durante 60 minutos antes de la siembra. El criterio utilizado para asumir este evento fue la perforación de

las semillas y muerte del embrión, daños que son visibles, 2 meses aproximadamente después de la siembra. El uso de ácido sulfúrico en palmas ha sido una práctica poco exitosa y se ha reportado que puede causar daños al embrión y a las plántulas en los primeros meses de crecimiento. En *Syagrus stenopetala*, el ácido sulfúrico afectó negativamente el porcentaje de emergencia (Maciel y Briceño, 2009).

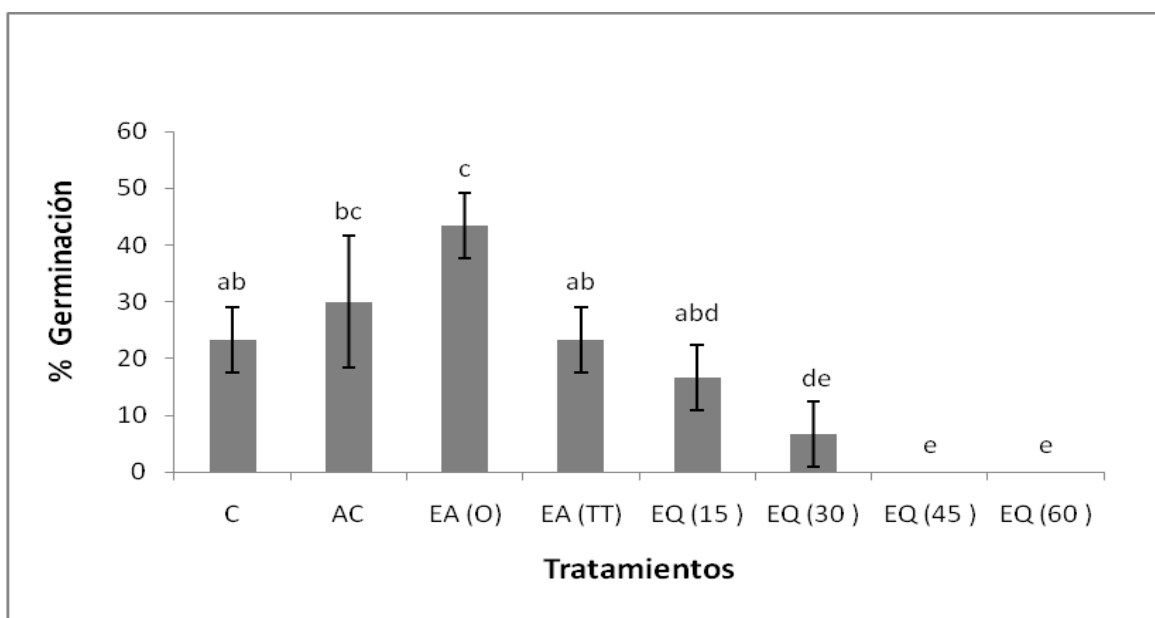


Fig. 9. Germinación (media ± d.e) en semillas de *Mauritia flexuosa* sometidas a diversos tratamientos.

C: control; AC: remojo en agua corriente EA(O): escarificación por abrasión en la zona del opérculo; EA (TT): escarificación por abrasión de toda la testa; EQ: escarificación química de semillas embebidas en H₂SO₄ durante (15), (30), (45) y (60) minutos. Medias con ninguna letra en común son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

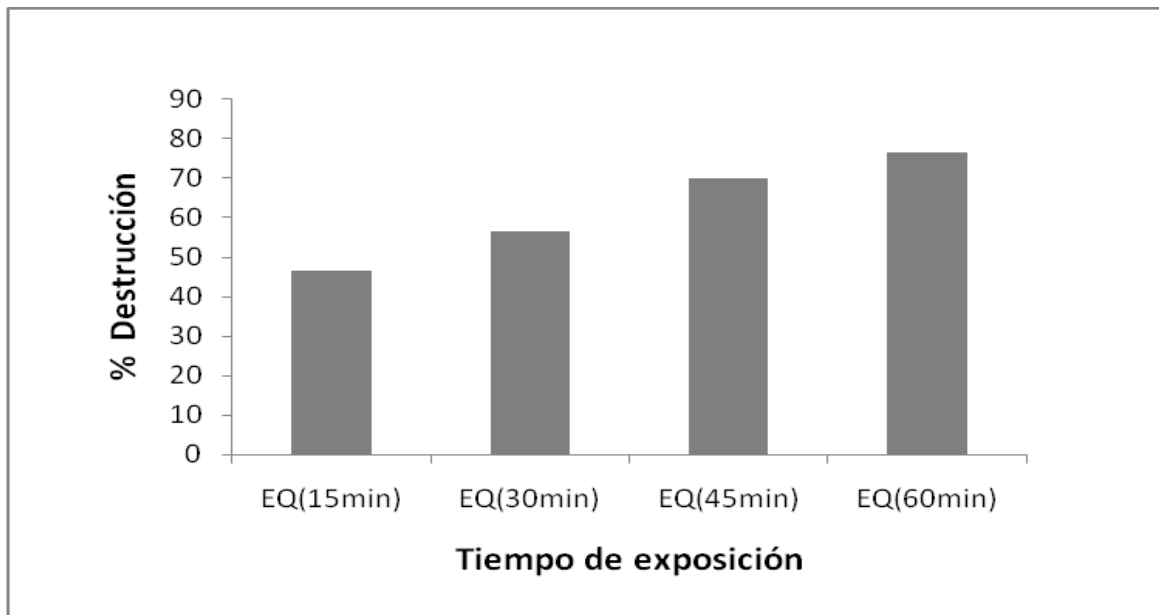


Fig. 10. Destrucción en semillas de *Mauritia flexuosa* en los diferentes tiempos de exposición al H_2SO_4 durante la escarificación química.
EQ: escarificación química de semillas embebidas en H_2SO_4 durante (15), (30), (45) y (60) minutos.

4.4.1.b. Germinación de semillas sembradas en condiciones ambientales contrastantes.

La germinación esta asociada a una serie de eventos fisiológicos que están influenciados por factores externos tales como la luz, temperatura, disponibilidad de agua y oxígeno.

Los morichales, no se encuentran distribuidos aleatoriamente sino que su presencia en un determinado paisaje geográfico, obedece a la combinación e interacción de distintas variables ambientales. *Mauritia flexuosa* presenta un conjunto de atributos, que la ubican como una especie pionera, requiriendo condiciones ambientales particulares para su

establecimiento. La presencia de un sustrato edáfico permanentemente saturado de agua y altos niveles de irradiación forman parte de las condiciones requeridas para el establecimiento de plántulas de moriche (González, 1987). Aún cuando Ponce y col. (1999) determinaron que la fase de plántula en *Mauritia flexuosa* puede tolerar condiciones de sombra.

Aparentemente la germinación de *Mauritia flexuosa* en condiciones naturales, es incompatible con la presencia de una lámina de agua alta y prolongada en el sustrato (González, 1987; Peña, 2004). Esta información resulta útil no sólo para intentar propiciar en vivero, invernadero o umbráculo, condiciones similares a las requeridas en el ambiente natural, sino además permite establecer el momento oportuno en que se debería iniciar el proceso de repoblación. Según Bonadie (1988) cualquier intento de restauración con implantación de semillas y plántulas puede llevarse a cabo durante la época en donde la germinación natural es exitosa.

Se ha reportado que las semillas de moriche no son fotosensibles, sin embargo, altos niveles de luz implican altas temperaturas y se sabe que las palmas tropicales requieren temperaturas elevadas, generalmente superiores a 30°C para obtener una germinación mas rápida y uniforme (Capisto, 2004). Este hallazgo también ha sido corroborando por Márquez (1995), quien en una evaluación de la vegetación en proceso de recuperación, luego de un derrame de petróleo y posterior quema en la población de Musipan, Estado Monagas (Pozo MUC-21), evidenció que donde los individuos adultos presentaron fuego de corona, mejoraron las condiciones lumínicas y se estimuló la germinación. De igual forma Ponce y col. (1996) reportaron que en morichales abiertos del Estado Guárico, donde había una mayor radiación, la aparición de plántulas fue mayor que en morichales muy densos de la misma localidad. Por

su parte Márquez y Briceño (2000; citado en: Peña, 2004) determinaron la composición estructural y florística del morichal Nicolasito, en el Estado Guárico, encontrando mayor densidad de plántulas en el sitio de mayor intervención, con dosel muy abierto. Al igual de lo que sucede con muchas especies colonizadoras, los cambios autogénicos producidos en el ambiente por la acción del crecimiento de las poblaciones de moriche son desfavorables para el reclutamiento y establecimiento de sus propias plántulas (González, 1987). En tal sentido, aun cuando muchos de estos trabajos reportan la importancia de la incidencia de la radiación solar para el desarrollo de las plántulas, es posible que el aumento de la irradianza genere una mayor temperatura del suelo en los claros, favoreciendo la germinación de las semillas.

La Figura 11 muestra los resultados del porcentaje de germinación obtenido en semillas sembradas en condiciones diferentes a las persistentes en el umbráculo, donde la variación principal fue la temperatura, junto a una serie factores particulares, como agua, humedad, oxígeno y sustrato, propiciando diferentes porcentajes de germinación.

La temperatura es un factor decisivo en el proceso de la germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en la semilla después de la rehidratación, y existe un intervalo de temperatura particular para cada especie en la cual la germinación es favorecida. Adicionalmente, según Harrington (1923), muchas especies germinan mejor a temperaturas fluctuantes.

Según los resultados del presente estudio la mayor germinación se presentó en las semillas colocadas sobre plataforma de fibra de vidrio, en sacos de polipropileno, donde se alcanzaron los más altos registros de temperaturas y ocurrieron las mayores fluctuaciones durante el día con mínimos de 22°C y máximos de 38°C, siendo significativamente mayor

($p < 0,05$) al resto de las condiciones. Incluso la germinación de las semillas en esta condición fue estadísticamente superior ($p < 0,05$) a la registrada en todos los tratamientos pre-siembra en condiciones de umbráculo, a excepción del correspondiente a escarificación en la zona del opérculo.

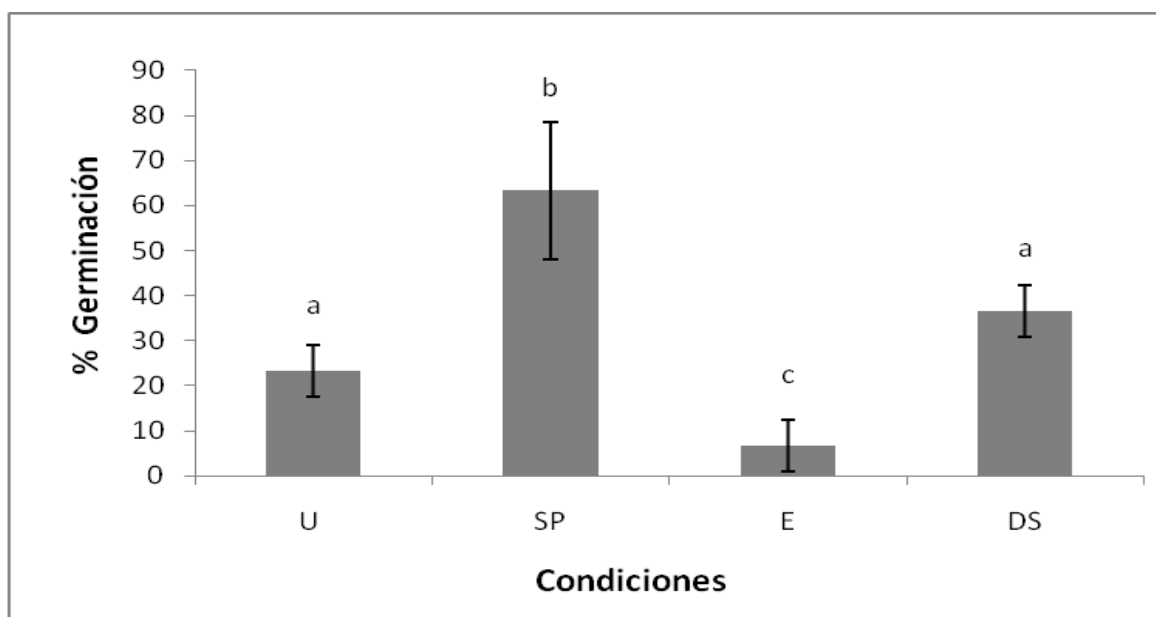


Fig. 11. Germinación (media \pm d.e) en semillas de *Mauritia flexuosa* sembradas en condiciones diferentes.

U: umbráculo; SP: sacos de polipropileno, sobre plataforma; E: estufa (35°C); DS: directamente en el suelo bajo lamina de aluminio. Medias con letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

En las semillas colocadas en la estufa a una temperatura constante de 35°C, se obtuvo el más bajo porcentaje de germinación entre condiciones diferentes. Adicionalmente bajo esta condición ocurrió el más alto porcentaje de abortos entre todos los tratamientos y condiciones, con un 70%, seguido del tratamiento correspondiente a escarificación por abrasión de toda la testa con 16,67%. En el tratamiento control no se observó esta anomalía. Por su parte las

semillas sembradas directamente en el suelo fuera del umbráculo bajo lámina de aluminio con temperaturas superiores a los 30°C durante gran parte del día a lo largo del ensayo ocupó el segundo mejor registro de germinación de todos los tratamientos y condiciones evaluados con 36,67% de germinación.

Los resultados demuestran la importancia de temperaturas elevadas, para favorecer la germinación de *Mauritia flexuosa*, siempre y cuando se propicien fluctuaciones periódicas, típicas de condiciones naturales, coincidiendo con las evaluaciones realizadas por Capisto (2004), quien reporta que temperaturas entre 30-35° C durante el día, propician los mejores resultados de germinación en la mayoría de las especies de palmas tropicales. Carpenter y Gilman (1988), estudiaron la temperatura para controlar la germinación en *Thrinax morrinsi* y encontraron que a temperaturas alternas entre 25 y 35 °C en intervalo de 12 horas ocurrió la máxima germinación. En la palma *Archontophoenix alexandrae*, temperaturas superiores a 30°C aumentan el porcentaje de germinación (Capisto, 2004), mientras Maciel y Briceño (2009), demostraron que en *Syagrus stenopetala*, la germinación alcanza 38% y 23% a temperaturas de aproximadamente 30°C y 26°C respectivamente.

La importancia de la temperatura para la germinación de semillas de palmas también ha sido demostrada, con mayor profundidad, en *Elaeis guineensis* (Palma africana) debido a su valor económico. Broschat y Donselman (1988), encontraron que esta especie requiere temperaturas altas en el sustrato para romper la inactividad. Por su parte Capisto (2004), reportó que el calor seco se ha reconocido como el método más eficiente para favorecer la germinación de la palma africana y se logra exponiendo la semilla a temperaturas de 40° C por períodos de 40 a 80 días.

4.4.2.a. Tiempo de Germinación en semillas tratadas.

El porcentaje de germinación por si solo no representa un criterio valido para diagnosticar la capacidad germinativa de las semillas. También resulta de vital importancia en proyectos de repoblación vegetal, conocer el tiempo de germinación de las semillas utilizadas y saber entre diferentes tratamientos cual ofrece una germinación más rápida. En la literatura se ha reportado un amplio intervalo de tiempo para la germinación de *Mauritia flexuosa* que van desde los 2 meses hasta los 5 meses según la fase entre la recolección y la siembra, las condiciones de siembra y los tratamientos pre-siembra (González, 1987; Braun, 1988, Ponce, 2000; Capisto, 2004)

En la Figura 12 se encuentra el tiempo de germinación obtenido para los distintos tratamientos aplicados en condiciones de umbráculo, encontrándose diferencias significativas entre el tratamiento de escarificación por abrasión en toda la testa con todos los demás tratamientos ($p < 0,01$). El resto de los tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre si ($p > 0,05$). La eliminación de la testa reduce el tiempo de germinación en otras especies de palma como *Pritchardia pacifica* (Capisto, 2004) y *Syagrus stenopetala* (Maciel y Briceño, 2009).

Aun cuando el tratamiento escarificación de toda la testa correspondió a la germinación más rápida con un promedio de 58,8 días, ocurrió un evento particular en todas las semillas sin testa como fue la proliferación de fitopatógenos, principalmente hongos, que cubrieron la superficie de las semillas en su mayoría pertenecientes a los géneros: *Aspergillus*, *Periconia* y *Nigrospora*.

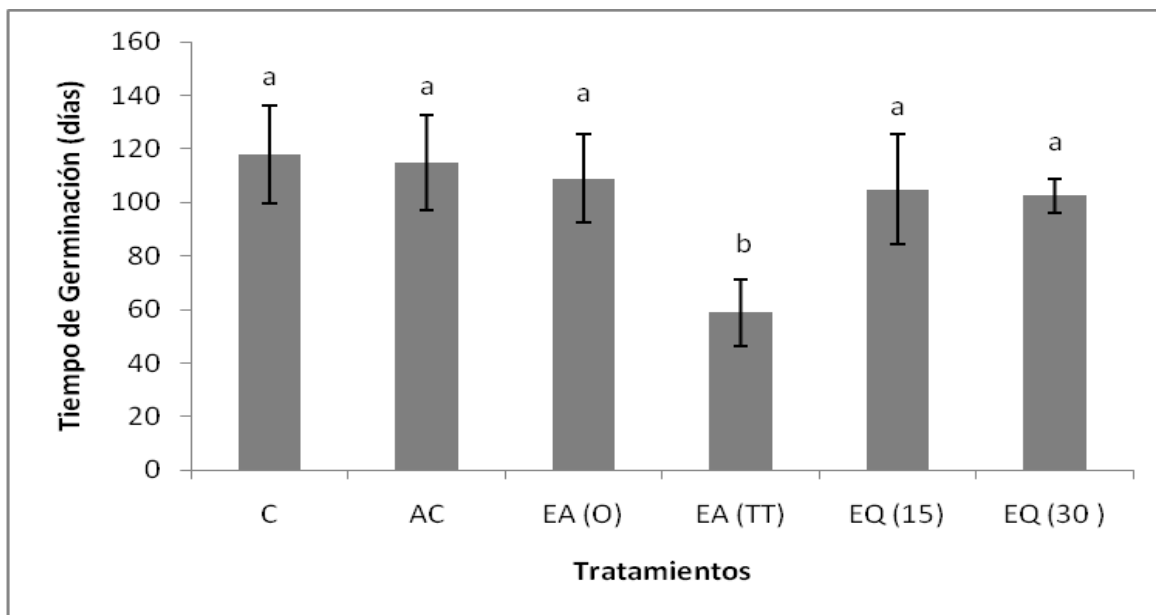


Fig. 12. Tiempo de germinación en semillas de *Mauritia flexuosa* sometidas a diversos tratamientos.

C: control; AC: remojo en agua corriente; EA(O): escarificación por abrasión en la zona del opérculo; EA (TT): escarificación por abrasión de toda la testa; EQ: escarificación química de semillas embebidas en H_2SO_4 durante (15) y (30) minutos. Medias con letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

4.4.2.b. Tiempo de Germinación en semillas sembradas en condiciones ambientales contrastantes.

En la Figura 13 se reportan los resultados del tiempo de germinación de semillas sembradas en distintas condiciones, donde sólo se alcanzan diferencias estadísticamente significativas entre las semillas sin tratar sembradas en suelo de morichal y colocadas en el umbráculo con todas las demás condiciones ($p < 0,01$). Incluso se encontraron diferencias significativas entre el tiempo de germinación de semillas colocadas en sacos de polipropileno, estufa y directamente en el suelo, con todas las semillas tratadas y sembradas en condiciones

de umbráculo ($p < 0,05$) a excepción del tratamiento escarificación de toda la testa. Ello evidencia que la temperatura es un factor determinante en la germinación de estas semillas, donde altas temperaturas con fluctuaciones periódicas aumenta tanto la capacidad germinativa como la velocidad de germinación. Al respecto, las experiencias realizadas por Braun (1988) en el Jardín Botánico de Carcas, demuestran que temperaturas por debajo de 26°C , retrasan la germinación en la mayoría de las especies de palmas tropicales. Particularmente el coco (*Cocos nucifera*), requiere en las playas de Venezuela entre 4 y 5 meses para germinar, mientras que en Caracas, hasta un año. Por su parte *Attalea butyracea*, germina en Maracaibo después de 2-4 meses, mientras en Caracas puede tardar hasta dos años. Según Braun (1995) la palma llanera (*Copernicia tectorum*) no se puede cultivar en Caracas, pues exige mucho calor.

En el caso particular de *Mauritia flexuosa*, la Central Florida Palm and Cycad Society (CFPCS) reporta que con temperaturas mayores a 30°C , se logran los mejores resultados de germinación, en aproximadamente un mes después de la siembra.

En términos generales la secuencia de los eventos germinativos demuestra que las semillas de *Mauritia flexuosa*, presentan germinación por pulsos. Según Ponce (2000), el tiempo postsiembra requerido para la germinación, sugiere la posible postmaduración del embrión.

Exceptuando las semillas escarificadas totalmente y las sembradas en condiciones de temperaturas elevadas con amplias fluctuaciones, se encontró que la germinación ocurrió posterior a los dos meses, coincidiendo con los estudios que se han llevado a cabo en

condiciones de vivero y estaciones experimentales en Venezuela (González, 1987; Braun, 1988).

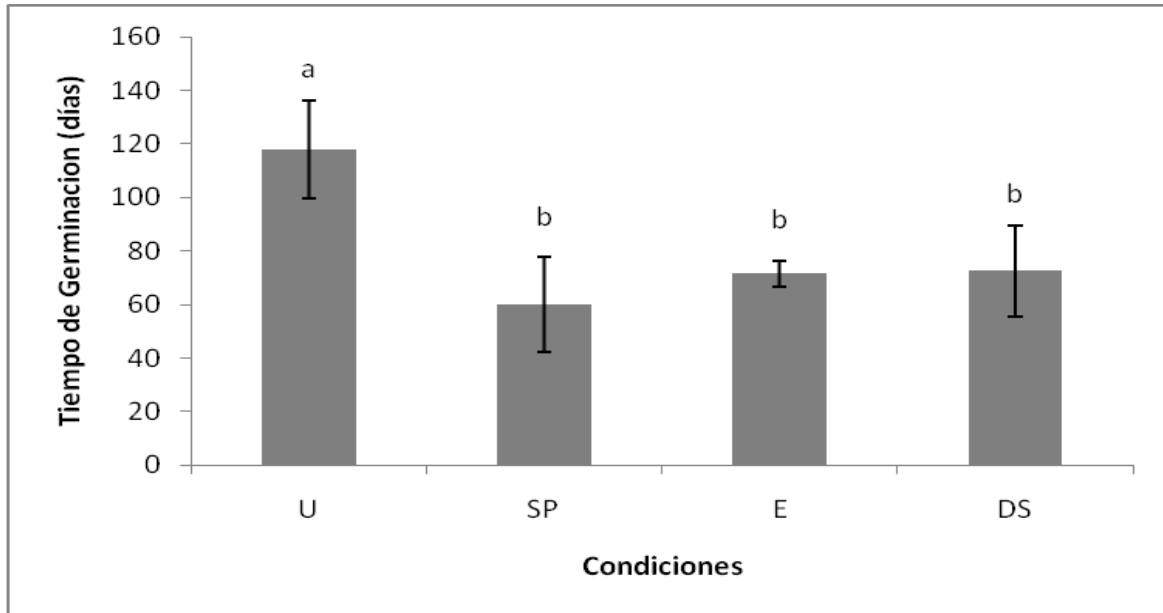


Fig. 13. Tiempo de germinación en semillas de *Mauritia flexuosa* sembradas en condiciones ambientales distintas.

U: umbráculo; SP: Sacos de polipropileno, sobre plataforma; E: estufa (35°C); DS: directamente en el suelo bajo lamina de aluminio. Medias con letras distintas son significativamente diferentes ($p < 0.01$).

La estructura poblacional de los individuos de *Mauritia flexuosa* presentes en la comunidad de morichal, revela que presentan un patrón de maduración y caída de frutos anual (Ponce, 2000). El máximo reclutamiento coincide con la fructificación, en el período de lluvias (Peña, 2004). Sin embargo, la germinación y el establecimiento de las plántulas, debe coincidir con períodos en los cuales la inundación no sea muy prolongada en el tiempo y el nivel de la lámina de agua sobre el suelo sea mínimo (González, 1987).

4.4.3.a. Mortalidad de vástagos procedentes de semillas tratadas.

Además del número y velocidad de germinación en las semillas, resulta necesario conocer el porcentaje de sobrevivencia de los brotes, que representa generalmente la etapa mas crítica del individuo y puede repercutir drásticamente en la obtención de plántulas en vivero con fines de repoblación vegetal.

En palmas, el crecimiento a expensas de un único meristema apical, las hace potencialmente susceptibles a la mortalidad si este es destruido (Ponce y col. 1996).

El período inmediato a la germinación y el estado de plántula se encuentran entre los mas vulnerables, de las plantas de humedal, debido entre otros factores a la particular susceptibilidad a patógenos y herbívoros (Gordon y col., 2000; Cronk y Fennessy, 2001) Precisamente esta fase representa el período mas vulnerable para la sobrevivencia de *Mauritia flexuosa* en condiciones naturales (Ponce y col. 1996)

Como se muestra en la Figura 14, el tratamiento de escarificación en toda la testa fue el que mas repercutió sobre la sobrevivencia con un 85,71 % de mortalidad, generada posiblemente por los hongos que permanecían sobre la semilla y en el suelo incluso después de la germinación. El desarrollo mas eficiente del brote y de la plántula correspondió al tratamiento control y el tratamiento remojo en agua corriente.

4.4.3.b. Mortalidad de vástagos procedentes de semillas sembradas en condiciones ambientales contrastantes.

Adicional a la temperatura, un requisito importante para la germinación de las semillas y desarrollo de plántulas de moriche es la humedad. Según González (1987) la germinación y

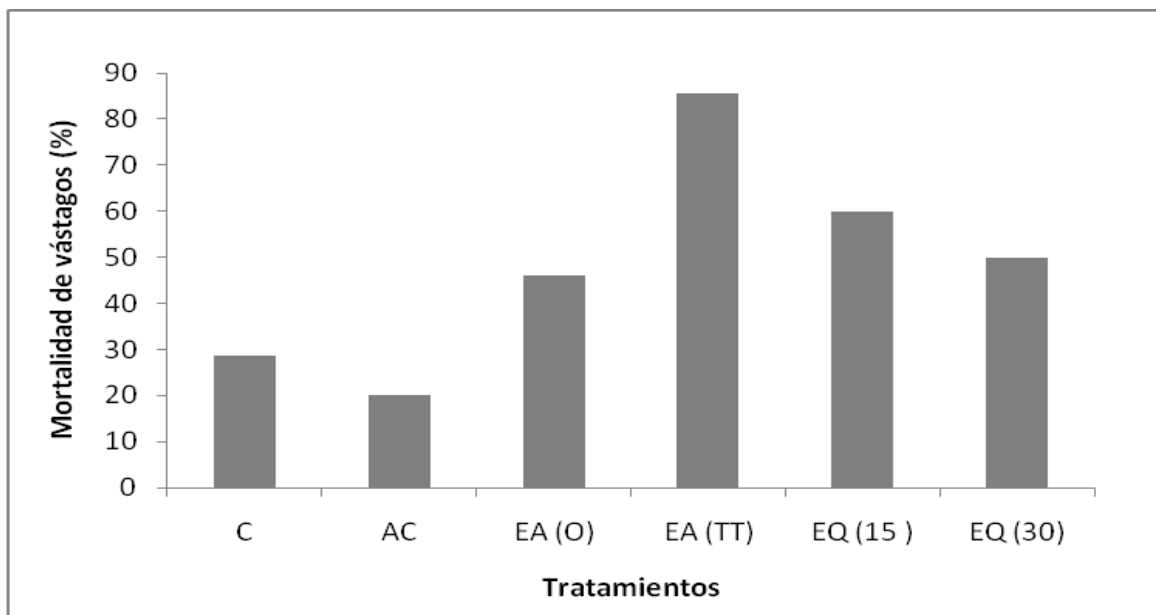


Fig. 14. Mortalidad de vástagos procedentes de semillas de *Mauritia flexuosa* sometidas a diversos tratamientos.

C: control; AC: remojo en agua corriente EA(O): escarificación por abrasión en la zona del opérculo; EA (TT): escarificación por abrasión de toda la testa; EQ: escarificación química de semillas embebidas en H₂SO₄ durante (15) y (30) minutos. Los porcentajes provienen de la proporción de muertes con relación al número de semillas germinadas por tratamiento.

establecimiento en condiciones naturales de *Mauritia flexuosa*, es incompatible con condiciones extremas, bien sea por sequía o por la presencia de una lámina de agua alta y de duración prolongada sobre el sustrato. Sin embargo, la presencia de un sustrato permanente saturado de agua parece ser un requisito necesario para la sobrevivencia de plántulas en sus primeras etapas de vida. Aun cuando el riego fue 4 veces por semana en todos los tratamientos y condiciones e incluso diario durante la época de sequia y en las semillas colocadas en la estufa, los requerimientos de agua variaban según las condiciones de siembra, debido a que las semillas sembradas directamente en el suelo y en condiciones de estufa mantenían por menos

tiempo la humedad del sustrato, con relación a las semillas en umbráculo y en sacos de polipropileno.

En los resultados obtenidos (Figura 15) la principal causa de muerte parece estar vinculada a la pérdida de humedad de los brotes, principalmente en semillas colocadas en la estufa a 35°C y en semillas sembradas directamente en suelo donde la magnitud del sustrato no permitía mantenerlo permanentemente saturado de agua. Sin embargo es importante destacar que el mantenimiento de un sustrato saturado de agua no debe implicar el mantenimiento de una lámina de agua sobre el suelo, ya que fue posible observar que en estos casos se propician condiciones favorables para el establecimiento de fases larvales de insectos que actúan como fitopatógenos.

Adicionalmente, aun cuando el moriche puede considerarse como una planta hidrófila, la baja concentración de oxígeno en el sustrato inundado puede ser estresante, particularmente en las primeras fases de desarrollo donde se requiere un rápido crecimiento (Cronk y Fennessy, 2001). Esto se debe a que si bien es cierto que el moriche presenta prolongaciones radiculares verticales con geotropismo negativo que facilitan la captación de oxígeno, estas aparecen tiempo después de la aparición de la raíz principal, con geotropismo positivo.

Según Gordon y col. (2000), una de las posibles causas de la menor densidad de plántulas con relación a las semillas en condiciones naturales, se debe a que las semillas pueden caer a una distancia considerable de la superficie del suelo. Resultando pertinente considerar la profundidad de siembra. Generalmente es recomendable colocar las semillas a poca distancia de la superficie, permitiendo además de un mayor control sobre la germinación, aumentar las probabilidades de emerger (Fenner, 1985).

En condiciones naturales la probabilidad de supervivencia aumenta con la edad de los individuos (Ponce, 2000; Peña, 2004), y la mortalidad parece estar vinculada a cambios en el clima y las condiciones físico-químicas del sustrato (Peña, 2004), entre otros factores como caída de hojas megáfilas, depredación, pisoteo, herbivoría e inundación (Ponce y col, 1996).

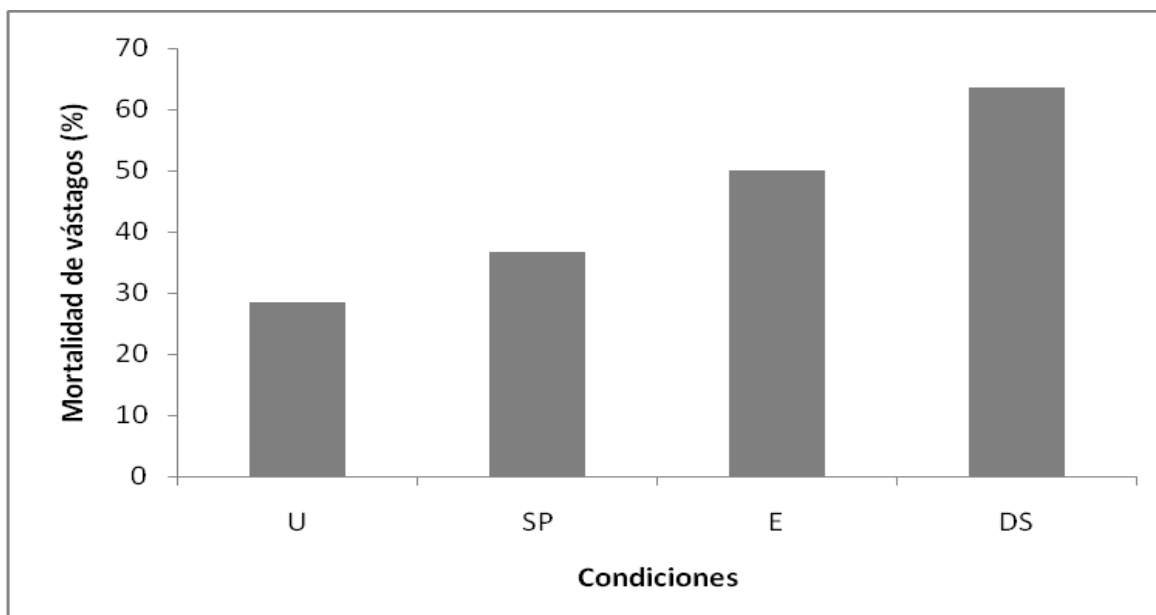


Fig. 15. Mortalidad de vástagos procedentes de semillas de *Mauritia flexuosa* sembradas en condiciones contrastantes.

U: umbráculo; SP: Sacos de polipropileno, sobre plataforma; E: estufa; DS: directamente en el suelo bajo lamina de aluminio. Los porcentajes provienen de la proporción de muertes con relación al número de semillas germinadas por tratamiento.

4.5. Efecto del tamaño de las semillas sobre la capacidad germinativa de *Mauritia flexuosa*.

Una de las características que puede otorgar ventajas e influir en el desarrollo del individuo es la masa de las semillas, la cual puede estar relacionada con la masa del endospermo y la cantidad de reserva para crecer y/o enfrentar condiciones adversas. La probabilidad de supervivencia de las semillas durante el proceso de germinación está directamente relacionada con el tamaño (peso y reservas almacenadas o el vigor y tamaño del embrión) (Baker, 1972; Stebbins, 1976; 1977; Stanton, 1984; citados en: Gordon, 1992). Se han encontrado variaciones en el tamaño de las semillas, tanto a nivel de individuo, como dentro y entre poblaciones de una misma especie, atribuidas a diversos factores genéticos y/o ambientales (Smith y Fretwell, 1984; Gross, 1984; Hendrix, 1984; Staton, 1984; Staton y col., 1987; Kang y Primack, 1991; citados en: Gordon, 1992). En las investigaciones a nivel de especies, las variaciones en el tamaño de las semillas, se ha relacionado con la probabilidad o tiempo de germinación (Stanton, 1985; Winn, 1985; citado en: Gordon, 1992) En tal sentido, conocer el intervalo de tamaño en semillas de moriche que brinde mejores resultados de germinación, debe formar parte de las estrategias para la obtención de plantas en viveros o invernaderos destinadas a repoblar áreas afectadas por derrames de petróleo.

En la Tabla 6 se presenta el intervalo de longitud y el peso promedio para las 20 semillas de cada una de las 4 clases de tamaño evaluadas. Se contemplaron arbitrariamente 4 intervalos, con una amplitud de intervalo acorde para lograr que fueran estadísticamente diferentes con relación al peso promedio ($p < 0.05$).

Tabla 6. Relación entre longitud y peso promedio para cada clase de tamaño establecidas a semillas usadas en la evaluación.

Clases de tamaño	Intervalo de longitud (cm)	Peso promedio (g)
I	2 - 2,4	7,30 a
II	2,5 - 2,9	10,49 b
III	3,0 - 3,4	12,59 c
IV	3,5 - 3,9	15,73 d

Medias del peso con letras diferentes, indican diferencias significativas. ($p < 0,05$; ANOVA) con relación al intervalo de longitud, correspondiente a las cuatro clases de tamaño en semillas de *Mauritia flexuosa* establecidas.

La mayor parte de las semillas medidas inicialmente, provenientes de Mapire, Estado Anzoátegui, pertenecían al intervalo de longitud de la clase de tamaño II. Interesante destacar que un lote de semillas procedentes de otra población ubicada en San Tomé, Estado Anzoátegui, presentaron mayor tamaño en todos los casos con un peso promedio de 24,71 g por semilla, lo que obliga a indicar la necesidad de asumir criterios particulares de acuerdo a la variabilidad genética existente. Sin embargo, según Aarssen y Burton (1990), el ambiente en el que se desarrolla la planta madre puede tener efectos importantes sobre el fenotipo de las semillas producidas, donde plantas expuestas a condiciones nutricionales favorables producen semillas de mayor peso que plantas que crecen con déficit nutricional, lo que implicaría que el componente genético tiene poca importancia como fuente de variación en el tamaño.

Adicionalmente, las semillas provenientes de San Tomé, fueron almacenadas durante un largo período de tiempo, presentando una menor germinación con relación a las semillas recolectadas en Mapire, y las pocas que germinaron lo hicieron posterior a los 8 meses de siembra. Al respecto González (1987) establece que la germinación del moriche es favorecida mientras menor sea el tiempo entre recolección y siembra. Esta afirmación se ha reportado para otras especies de palmas (Broschat y Donselman, 1988; Maciel, 2001). Sin embargo, también es importante considerar el momento de la recolección, generalmente, se menciona que la germinación exitosa está determinada por el uso de semillas provenientes de frutos maduros y frescos (Broschat, 1994), aun cuando se han reportado excepciones, como en *Livistona chinensis* (Maciel, 2001) y *Roystonea regia* (Broschat y Donselman, 1987).

4.5.1. Germinación

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la germinación de las semillas pertenecientes a las clases II, con relación a las semillas mas grandes, correspondientes a la clase de tamaño IV (Figura 16). Al respecto se ha sugerido, que dentro de una especie, el tamaño de las semillas guarda una relación inversa con la tasa de germinación debido a la mayor relación área volumen en semillas más pequeñas (Harper y Obeid, 1967).

En este ensayo no se consideró el efecto del tamaño de la semilla sobre el desarrollo de la plántula, sin embargo, muchos autores sostienen que las plántulas que derivan de semillas grandes, mantienen una ventaja competitiva sobre las plántulas de semillas pequeñas, debido a que proveen de una mayor reserva de nutrientes durante el período inmediato a la

germinación (Fenner, 1985). Ello justifica que la sobrevivencia de plántulas provenientes de semilla grandes puede ser mayor que la de semillas pequeñas (Parolin, 2001), incluso en hábitats de recursos limitados, altamente competitivos u estresantes (Harper, 1977) como podría ser el caso de suelos contaminados por petróleo.

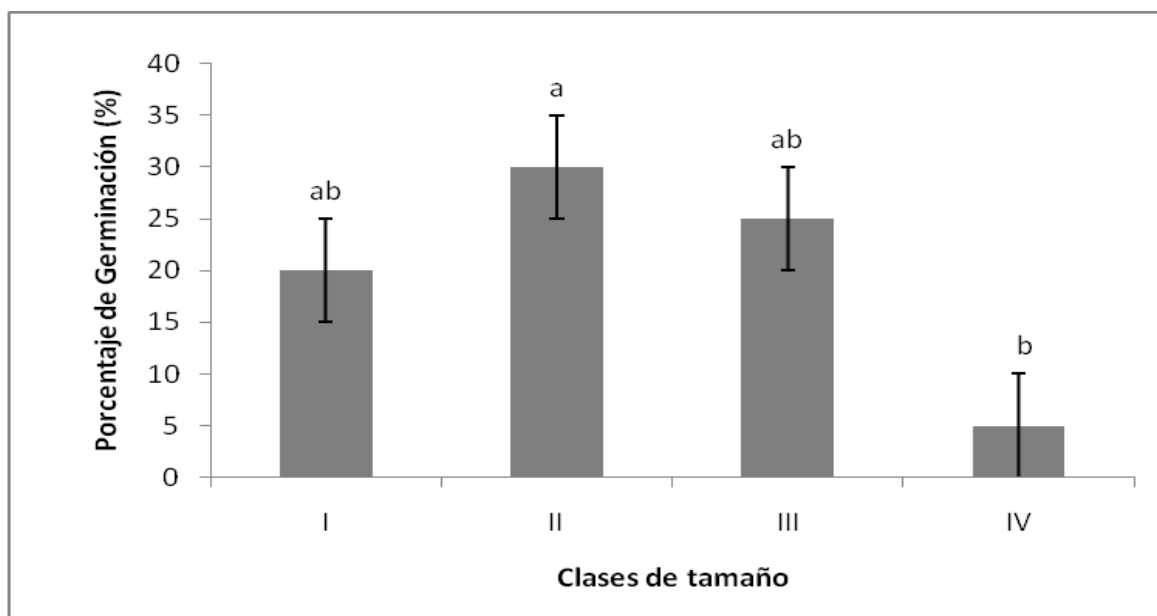


Fig. 16. Porcentaje de germinación (media \pm d.e) en semillas de *Mauritia flexuosa*, según clase de tamaño. Medias con ninguna letra en común son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

4.5.2. Tiempo de germinación.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las clases de tamaño y el tiempo de germinación ($p > 0,05$) (Tabla 7). Según, Gross (1984; citado en: Gordon, 2002) el tamaño de las semillas no influye en el tiempo de emergencia de las plántulas. Por otra parte, Harper (1977) considera que el establecimiento de una plántula involucra una serie

de eventos determinísticos dentro del ambiente en el cual la escala de heterogeneidad esta dada por los tamaños de la semilla.

Tabla 7. Tiempo de Germinación (media \pm d.e) con relación al tamaño de semillas de *Mauritia flexuosa*.

Clases de tamaño	Tiempo promedio de Germinación (días)
I	99,5 \pm 12,6 a
II	111,8 \pm 14,2 a
III	116,6 \pm 16,9 a
IV	135,0 *

Medias con la misma letra indican ausencia de diferencias significativas ($p < 0,05$; K-W).
 * La clase de tamaño IV no se consideró en la evaluación, debido a que sólo una semilla germinó.

4.6. Evaluación de la tasa de crecimiento en plántulas de *Mauritia flexuosa*.

El manejo de las plántulas a nivel de vivero es imprescindible para la obtención del material vegetal necesario en los planes de reforestación. Conocer el tiempo necesario para obtener plantas de tamaño adecuado, útiles en la ejecución de pruebas de toxicidad o siembra directa, forma parte de las estrategias necesarias en la planificación de actividades de repoblación vegetal como estrategia de restauración ecológica.

De las 30 plántulas de moriche evaluadas en este ensayo, se observó que durante la primera fase de desarrollo justo después de la aparición visible de la plúmula, ocurrida entre los 15 y 45 días aproximadamente, luego de la germinación se aprecia un rápido crecimiento de aproximadamente 70 mm en un mes (Figura 17). Posteriormente, disminuye la velocidad de crecimiento hasta el momento de expansión de las hojas, alrededor de los tres meses, donde ocurre nuevamente un rápido incremento de la elongación del vástago.

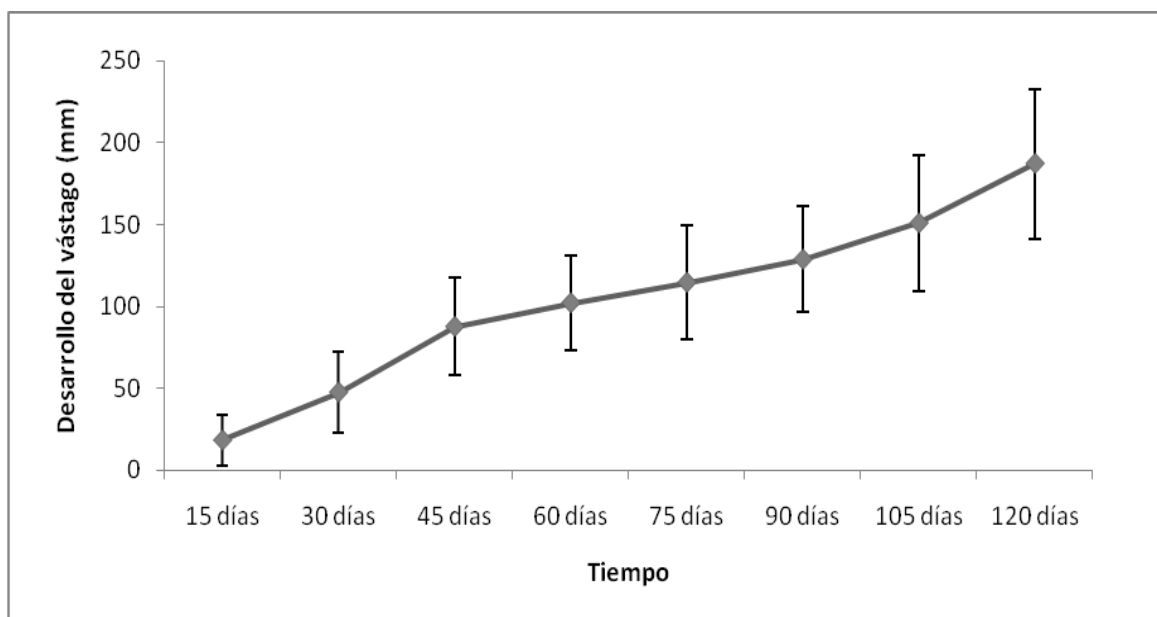


Fig. 17. Tasa de crecimiento en plántulas de *Mauritia flexuosa* durante los primeros 120 días de desarrollo.

A los 120 días después de la germinación, que corresponde al final de la evaluación, todas las plántulas evaluadas muestran hojas expandidas, que correspondió al criterio utilizado para iniciar los ensayos de toxicidad. La ausencia de efecto en altas concentraciones del hidrocarburo, reportada anteriormente, demuestra que en esta fase, la fuente de reserva contenida en la semilla mantiene la sobrevivencia de las plántulas. El tiempo de duración de la

fase de plántula, definida como el período comprendido entre la emergencia de la radícula y el completo agotamiento de las reservas de la semilla, puede variar dependiendo de las condiciones de luz. Según Ponce (2000), la fase de plántula en *Mauritia flexuosa*, transcurre durante 5 meses a 100% de irradianza y 8 meses para valores menores o iguales a 2% de luz.

5. CONSIDERACIONES FINALES

Mauritia flexuosa es catalogada por el Libro Rojo de la Flora Venezolana, como una especie vulnerable. Entre las principales amenazas que enfrenta esta especie se encuentra la destrucción del hábitat por actividades petroleras.

Tomando en cuenta lo anterior, resulta importante divulgar dentro de la industria petrolera, la necesidad de conservar los morichales, especialmente la palma moriche, debido a su importancia ecológica, valor paisajístico, utilidad social, vinculación cultural y potencial económico. Diversos autores han reportado el uso potencial de *Mauritia flexuosa* en actividades de repoblación vegetal como estrategia de restauración ecológica de morichales afectados por derrame de hidrocarburos (Carrillo y col, 2007; citado en: Zamora y col, 2009; Quilice y col, 2007; Bevilacqua y González, 1994). Ello se relaciona con su capacidad para renovar el follaje afectado y su capacidad de crecer en claros producidos por la acción antrópica (Carrillo y col, 2007; citado en Zamora y col, 2009; González, 1987).

Los resultados del presente estudio apoyan la idoneidad de *Mauritia flexuosa*, para revegetar áreas afectadas por la actividad petrolera, ya que muestra una amplia tolerancia a la contaminación del suelo por petróleo pesado. Las concentraciones de petróleo pesado en los cuales, el moriche muestra capacidad germinativa y ausencia de efecto sobre la sobrevivencia, e incluso las CE_{50} para la germinación de semillas (5,01%) y sobrevivencia de plántulas (39,81%), superan el mínimo nivel de limpieza de suelos contaminados con hidrocarburos permitido en la norma establecida en el Decreto 2635 (Republica de Venezuela, 1998), que es de 1% de aceites y grasas. En consecuencia, si se han alcanzado estos límites, las actividades de recuperación vegetal no deben verse afectadas significativamente por la contaminación con

hidrocarburos. Otro detalle importante, no es sólo las altas tasas de hidrocarburo pesado que pueden tolerar las plántulas, sino también el tiempo de exposición a la contaminación, que en nuestro caso fue de 2 meses. Este tiempo relativamente alto de exposición, puede ser aprovechado en la práctica para desarrollar y ejecutar planes eficientes de limpieza del suelo y de revegetación del área.

Por ultimo, es importante destacar que el establecimiento de *Mauritia flexuosa*, es vital e imprescindible para garantizar la recuperación de morichales degradados. Al respecto, Delascio (1999), en un manantial de Hato Piñero donde fueron sembrados individuos de *Mauritia flexuosa*, realizó un inventario florístico, 40 años después de la siembra y, encontró 55 familias, 105 géneros y 111 especies. El autor destaca la importancia de la palma de moriche como pionera de las comunidades de morichal y señala que luego de la siembra, *Mauritia flexuosa* se mantuvo y prosperó no sólo como individuo aislado, sino que favoreció también el establecimiento y la coexistencia de otras especies propias de lugares pantanosos.

6. CONCLUSIONES.

1.- *Mauritia flexuosa*, mantuvo su capacidad germinativa en suelos contaminados con petróleo pesado en dosis de 0% a 8% y la concentración que generó el 50% de inhibición sobre la germinación (CE_{50}) fue de 5,01%. Las dosis empleadas no repercutieron significativamente sobre el tiempo de germinación.

2.- La sobrevivencia en plántulas de *Mauritia flexuosa*, no fue afectada significativamente en concentraciones de hasta 32% de petróleo pesado, durante dos meses de exposición. La dosis letal (CE_{50}) fue de 39,81%. La contaminación no afectó la longitud y peso radical; sin embargo, la elongación del vástago fue mayor en plántulas sembradas en suelo limpio que en suelos contaminados con 16% y 32% de crudo.

3.- En los tratamientos de semillas, la escarificación en la zona del opérculo, favoreció significativamente la germinación. La escarificación por abrasión en toda la testa mejoró significativamente el tiempo de germinación pero promovió el ataque por fitopatógenos, generando una mayor mortalidad de brotes, con relación al resto de los tratamientos. La escarificación química con H_2SO_4 concentrado provocó la perforación de semillas y destrucción del embrión, con un incremento progresivo de incidencia en relación al tiempo de exposición.

4.- Respecto a las condiciones de siembra, la capacidad germinativa fue significativamente superior en semillas colocadas en sacos de polipropileno, donde se registraron las mayores temperaturas durante el día. A temperatura constante de 35°C ocurrió el más alto porcentaje de abortos entre tratamientos y condiciones. En las semillas sembradas

directamente en el suelo, las limitaciones hídricas propiciaron un aumento de la mortalidad de los vástagos

5.- El tamaño de las semillas no influyó significativamente en el tiempo de germinación; sin embargo, semillas con peso promedio de 10,49 g, pertenecientes al intervalo de 2,5- 2,9 de longitud, correspondientes al mayor número de semillas recolectadas en campo, resultaron significativamente superior a las semillas de clase de tamaño IV.

6.- Como alternativa a la siembra directa de semillas de moriche en morichales afectados por derrame de petróleo, se recomienda la siembra de plántulas, particularmente cuando las concentraciones del crudo en el suelo superan el 5%. Resulta conveniente utilizar plántulas con hojas expandidas, para lo cual se deberá esperar aproximadamente 120 días después de la germinación, como lo demuestran los resultados obtenidos de la tasa de crecimiento.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Adam G., Duncan H. 2002. Influence of diesel fuel on seed germination. *Environmental pollution*. **120**: 363-370.
- Amariki, J.O., Onofeghara, F.A. 1984. Effects of crude Oil Pollution on the Germination of *Zea mays* and *Capsicum frutescens*. *Environmental Pollution*. **35**: 159-167.
- Anderson, J.M., Ingram, J.S.I. 1992. Tropical Soil Biology and Fertility, a Handbook of Methods. 2da Edición. CAB International. 221 pp.
- Aarssen L. W. y Burton S.M. 1990. Maternal effects at four levels in *Senecio vulgaris* (Asteraceae) grown on a soil nutrient gradient. *Amer. J. Bot.* **77**: 1231-1240.
- Atlas, R. M. 1991 Microbial hydrocarbon degradation of oil spill. *Tech.Biotechnol.* **52**: 149-156.
- Bacon, P. 1990. Ecology Management of Swamp Forest in the Guiana's and Caribbean Region. En: Forested Wetlands Ecosystem Word. **15**: 213-250.
- Baskin, J., Baskin, C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* **14**: 1 -16.
- Beard, J.S. 1952. The classification of Tropical American Vegetation. *Types Ecology* **36**: 89-100.
- Bevilacqua, M.P., González, V. 1994 Consecuencia de derrames de petróleo y acción del fuego sobre la fisionomía y composición florística de una comunidad de morichal. *Ecotrópicos*. **7(2)**: 23-34.
- Bonadie, W.A. 1998. The ecology of *Roystoena oleracea* Palm Swamp Forest in the Nariva Swamp (Trinidad). *Wetlands*. **18 (3)**: 249-255.
- Bonner, F.T.1974. Seeds of Woody Plants in the United States. USDA. *Agriculture Handbook*. **450**
- Braun, 1988. El cultivo de las palmas en el trópico. Tipografía Cervantes. Caracas, Venezuela. 67 pp.
- Braun, A., Delascio, F. 1987. Palmas autóctonas de Venezuela y de los países adyacentes. Editorial Litopar C.A. Caracas, Venezuela 56 p.

- Brady, N. C. 1990. The Nature and Properties so soil. 10th edition. Macmillan Publishing Company. New York.
- Briceño, A; Maciel, N. 2004. Efecto de la madurez de los frutos, escarificación de la semilla y temperatura en la emergencia de la palmera *Coccuthinax barbadensis*. *Bioagro* **16** (2): 127- 132.
- Brissio, P.A. 2005. Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la provincia del Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera. Tesis de Licenciatura. Escuela superior de Salud y Ambiente. Universidad Nacional de Comahue.
- Broschat, T. 1994. Palm seed propagation. *Acta Horticulturae*. **360**: 141- 147.
- Broschat, T; Donselman. 1988. Palm seed storage and germination studies. *Principes*. **32** (1): 3-12.
- Brown, J. L., Martin, L., Nadeau, R.J. 2004. Soil Quality Improvement as a Prerequisite for Conventional or Plant-Mediated Bioremediation of Petroleum Contaminated Soil. Annual International Conference on Contaminated Soils, Sediments, and Water. Session 2: Phytoremediation.
- Capisto, C. 2004. Germinación de las semillas de palma [en línea]. Asociación Venezolana de Palmas (AVEPALMAS). CENTRO UNESCO [http:// www.avepalmas.org/germina.htm](http://www.avepalmas.org/germina.htm) [Consulta: 03 de Febrero de 2010].
- Carpenter, W; Gilman, E. 1988. Effect of temperature and desiccation on the germination of *Thrinax morrisii*. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* **101**: 288-290.
- Centro Agronómico Tropical de Investigaciones y Enseñanza (CATIE) 2000. Técnicas para la germinación de semillas forestales. Turrialba, Costa Rica.
- CIDIAT 1985. Diagnóstico de los probables efectos de la actividad petrolera sobre los ecosistemas de Morichales. Convenio Cidiat-Lagoven, 12-D-281, 99 pp.
- Comisión de Desarrollo y Medio Ambiente de América Latina y El Caribe, 1991. Nuestra Propia Agenda. Banco Interamericano de Desarrollo- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Washington. 98 p.
- COPLANARH. 1974. Inventario Nacional de Tierras. Región Centro Oriental. Publicación N°35
- Cronk, J.K., Fennessy, M.S. 2001. Wetland Plants: Biology and Ecology. Lewis Publishers. USA. 426 PP.

- Cunningham, S.D., Anderson, T.A., Schwaba. A.P. 1996. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Agron.* **56**: 55-114.
- Cunningham, S.D. y Ow, D.W. 1996. Promises and Prospects of Phytoremediation. *Plant Physiology.* **110(3)**: 715-719.
- Daniel W. 2009. Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Editorial Limusa. México.
- Delascio C.F. 1999. Composición Florística de un Morichal Antrópico en el Estado Cojedes, Hato Piñero (Morichito), Venezuela. *Acta Bot. Venez.* **22 (1)**: 185-194.
- Devlin, R. 1980. Fisiología Vegetal. Tercera edición. Editorial Omega. España.
- Deuel, L. Jr., Holliday, G.H. 1997. Soil Remediation for the Petroleum Extraction Industry 2th edition. Penn Well. USA.
- Dorn, B.P., Vipond E.T., Salanitro P.J., Wisniewski L.H. 1998. Assessment of the acute toxicity of crude oils using earthworms, microtox, and plants. *Chemosphere* **37**: 845-860.
- Environmental Protection Series (EPS). 2005. Biological Test Method: Test for Measuring Emergence and Growth of Terrestrial Plants Exposed to Contaminants in Soil. Environmental Technology Centre. Ottawa, Canada. 131 p.
- Ercoli, E. 2001. Total petroleum hydrocarbon monitoring in biodegradation of weathered crude oily residues. Univ. Nac. de Cuyo, Argentina.
- Espinoza, Y., Dendooven, L. 2004. Dynamics of carbon, nitrogen and hydrocarbons in diesel-contaminated soil amended with biosolids and maize. *Chemosphere* **54**: 379-386.
- Fenner, M. 1985. Seed ecology. Chapman y Hall. Londres, UK. 151 pp.
- Flores, N. 2001. Utilización de lodos residuales en la restauración de suelos contaminados con hidrocarburos. VI Congreso Nacional de Ciencias Ambientales, Pachuca; México.
- Frick, C. M., Farrell, R.E., Germida, J.J. 1999. Assessment of phytoremediation an in situ technique for cleaning oil-contaminated sites. Petroleum Technology Alliance of Canadá. Vancouver, British Columbia.
- González, B. V. 1987. Los Morichales de los Llanos Orientales: Un enfoque ecológico. Ediciones Corpoven, Caracas, Venezuela.

- González, B.V. 2009 a. Estructura y Funcionamiento del Sistema Ecológico de los Morichales de los Llanos Orientales de Venezuela. INTEVEP. PDVSA. 112p.
- González, B.V. 2009 b. El control de derrames de petróleo en el subsistema lótico y terrestre del ecosistema morichal (palmares de pantano de *Mauritia flexuosa*) en los Llanos Orientales de Venezuela. INTEVEP. PDVSA. 99p.
- González, B.V., Ponce, M.E., Brandin J., Ponce, M.A. 1996. Causas de Mortalidad en Plántulas de *Mauritia flexuosa* (Palma de Moriche) en los Llanos Centro-Orientales de Venezuela. *Ecotrópicos*. **9(1)**: 33-38.
- González, B.V., Rial, A. 2011. Amenazas que afectan el funcionamiento y la integridad de la estructura vertical y florística de las comunidades de morichal presentes en los Llanos Orientales de Venezuela, Colombia y el Delta del Orinoco. Instituto Alexander von Humboldt, Bogotá. Colombia.
- Gordon, C.E. 1992. Morfología y Ecología de Semillas de Plantas Acuáticas Vasculares. Trabajo de ascenso. Instituto de Zoología y Ecología Tropical. Facultad de Ciencias, UCV.
- Gordon, E; Polanco, L., Peña, C. 2000. Contribución a la Ecología de *Montrichardia arborescens*. Demografía. *Acta Bot. Venez.* **20(4)**: 51-64
- Guariguata, M. 1999. Bases ecológicas generales para el seguimiento de proyectos de restauración en bosques. pp. 83 – 95. En: Ponce de León, E. (ed.) Restauración ecológica y reforestación. Fundación Alejandro Escobar, Bogotá. Colombia.
- Harper, J.L. 1977. Population biology of plant. Academic Press, New York. 892 p.
- Harper, J.L; Obeid, M. 1967. Influence of seed size and depth of sowing on the establishment and growth of the varieties of fiber and oil seed flax. *Crop Science*. **7**: 527- 532.
- Harrington, G.T. 1923. Use of alternating temperatures in the germination of seeds. *Agron.* **23**: 295-332.
- Hernández- Valencia, I., López- Hernández, D. 1999. Allocation of Phosphorus in a Tropical Savanna. *Chemosphere*. **39 (2)**: 199-207.
- Hubálek, T., Vosáhlová, S., Mateju, V., Kováková, N., Novotný, C. 2007. Ecotoxicity Monitoring of Hydrocarbon-Contaminated Soil During Biorremediation: A Case Study. *Environ. Contam. Toxicol.* **52**: 1-7

- Ivanauskas, N., Ribeiro R., Castro, V. 2007. The importance of the regional floristic diversity for the forest restoration successfulness. pp. 63 – 76. En: Ribeiro Rodrigues. R.; S. Venancio y S. Gandolfi (eds.) High diversity forest restoration in degraded areas. Methods and projects in Brazil. Nova Science Publishers. Inc., New York. 223 pp.
- Lieth, H., B. Markert. 1990. Element Concentration Cadasters in Ecosystems. Methods of Assessment and Evaluation. 448 pp.
- Maciel, N. 2001. Emergencia de la Palma Real Venezolana (*Roystonea oleraceae*) en función de condiciones variables del fruto y la semilla. *Bioagro*. **13 (3)**: 105-110
- Maciel, N; Briceño, A. 2009. Efecto de la madurez de frutos, escarificación de la semilla y temperatura en la emergencia de *Syagrus stenopetala* Burret. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. **26**: 196-211.
- Mager, D.M. 2002. Evaluación de la Capacidad de Gramíneas Tropicales para Fitoremediar Suelos Contaminados con Hidrocarburos de Petróleo. Trabajo de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
- Márquez, M.E. 1995. Diagnostico de la Vegetación en zonas afectadas por el derrame del pozo MUC-21 localizado en el Estado Monagas. Trabajo Especial de Grado. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Mathew, M., Yang, X., Baxter, M., Senior, E. 2006. Bioremediation of 6% (w/w) diesel contaminated mainland soil in Singapore: Comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments. *Eng. Life. Sci.* **6 (1)**: 63-67.
- Mausbach, M.J., Parker, W.B. 2001. Background and History of the Concept of Hydric Soils. *Wetlands Soils, Genesis, Hydrology, Landscapes and Classification*. Cap. 12. Lewis Publisher; USA. 19-23 pp.
- Méndez-Natera J.R., Kharym,R.C., Otahola-Gómez, V.A. (2004) Efecto de la concentración y tiempo de contaminación de un suelo por petróleo en la germinación de semillas de maíz (*Zea mays* L.) cv. Himeca 95. *UDO Agrícola*. **4 (1)**: 66-71.
- Meyer, R.L. 1990. Palm Swamps. En: Forested Wetlands Ecosystem Word. **15**: 267-286.
- Mistch, W. J. and Gosselink, J.G. 2000. Wetlands. Tercera edicion. John y Wiley Sons, INC. USA. 920 pp.
- Molina-Barahona, L., Vega-Lugo, L., Guerrero, M., Ramírez, S. Romero, I., Vega-Jarquín, C., Albores, A. 2005. Ecotoxicological evaluation of diesel-contaminated soil before and after a bioremediation process. *Environ. Toxic.* **20(1)**: 100-190.

- Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA). 2008. Soil Toxicity and Bioassessment Test Methods For Ecological Risk Assessment. Toxicity Test Methods for Soil Microorganisms, Terrestrial Plants, Terrestrial Invertebrates and Terrestrial Vertebrates. Ecotoxicology Program Texas Tech University. Lubbock, Texas.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), 1984. Guideline for Testing of Chemicals, Guideline 208 “Terrestrial Plants Growth Test.” OECD, Paris, France. P.6.
- Organización de las Naciones Unidas (ONU), 1972. Declaración de la conferencia de las Naciones Unidas sobre el medio humano. Estocolmo [en línea] <http://www.pnuma.org/docamb/mh1972.php> [Consulta: 28 de marzo de 2010].
- Organización de Naciones Unidas (ONU), 2002. Declaración de Johannesburgo. [en línea]. <http://www.un.org/spanish/aboutun/charter.htm> [Consulta: 31 de marzo, de 2010].
- Parolin, P. 2001. Seed germination and early establishment of 12 tree species from nutrient-rich and nutrient-poor Central Amazonian flood plains. *Aquatic Botany*. **70**: 89-103.
- Pérez, K.E. 1984. Uso del hábitat por la comunidad de peces de un Río tropical asociado a un bosque. Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, Memoria N°121, Tomo XLIV. 143-162 pp.
- Peña, C.T. 2004. Variaciones en la estructura y composición florística de las comunidades de Morichal en la Cuenca Alta del Río Tigre (Edo. Anzoátegui). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
- Pivetz, B. E. 2001. Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites. Office of Solid Waste and Emergency Response. United States Environmental Pollution Agency, USEPA Washington, D. C.
- Ponce, M.E. 2000. Algunos aspectos de la biología poblacional de *Mauritia flexuosa* L.f. (palma moriche) en los llanos Sur Orientales del Estado Guárico, Venezuela. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
- Ponce, M.E., Brandín, J; Ponce, M.A., González, V. 1999. Germinación y establecimiento de plántulas de *Mauritia flexuosa* L.f. (Arecaceae) en los Llanos Sur – Orientales del Estado Guárico, Venezuela. *Acta Bot. Venez.* **22(1)** : 167-183.

- Quilice, A., Zamora, E., Carrillo, V. 2007. Evaluación de Técnicas de Restauración Ecológica de Ecosistemas de Morichal Afectados por Derrames de Hidrocarburos. Informe técnico. Gerencia de Ambiente e Higiene Ocupacional. INTEVEP. PDVSA.
- Quiñones, E., Ferrera, F., Gavi, L., Fernández, R. Rodríguez, V., Alarcón, A. 2003. Emergencia y crecimiento de maíz en un suelo contaminado con petróleo crudo. *Agrociencia*. **37**: 585-594.
- República de Venezuela. 1990. Normas para la Protección de Morichales. Decreto No 846. Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 34.642 del 27-9-1991.
- República de Venezuela. 1995. Normas sobre Evaluación Ambiental de Actividades Susceptibles de Degradar el Ambiente. Decreto 1.257. Gaceta Oficial de la República de Venezuela No. 35.946 del 25-4-1996.
- República de Venezuela. 1998. Normas para el Control de la Recuperación de Materiales Peligrosos y el Manejo de los Desechos Peligrosos. Decreto No. 2.635. Gaceta Oficial de la República de Venezuela No.5.245 Extraordinario del 3-8-1998.
- República Bolivariana de Venezuela. 2001. Ley sobre Sustancias, Materiales y Desechos Peligrosos. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela No. 5.554 Extraordinario del 13-11-2001
- Rodríguez, J., Rojas-Suárez, P. El libro rojo de la fauna venezolana. Provita/Fundación Polar. Caracas. (1995), 444 p.
- Schmidt, L. 2000. Guide to handling of tropical and subtropical forest seed. Chapter 11: Seed Testing. Danida Forest Seed Centre.
- Stauffer, F. 1999. Datos preliminares para la actualización de la flora de palmas (Arecaceae) de Venezuela. *Acta Bot. Venez.*, **22(1)**: 77-107.
- Siegel S., Castellan, N.J. 1982. Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. Editorial Trillas, México.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1989. Protocols For Short Term Toxicity Screening of Hazardous Waste Sites. EPA 600/3-88/029. Chicago, USA.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA).1993. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, 4th ed., EPA/600/4-90/027F, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Cincinnati, USA.

- United States Environmental Protection Agency (USEPA). 1996. Guía del Ciudadano: Medidas Fitocorrectivas. Office of Solid Waste and Emergency Response. United States Environmental Pollution Agency. Washington, USA.
- Vázquez, Y.C., Orozco, S.A. 1990. Seed dormancy in the tropical rain forest. *Reproductive ecology of tropical forest plants*. **7**: 247-259.
- Velásquez, J. 1994. Plantas Acuáticas Vasculares de Venezuela. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. 992p.
- Wilbert, J. 1969. Textos Folklóricos de los Indios Warao. *Latin American Studies*, **12**: 96-98.
- Xu, J. G., Johnson, R.L. 1995. Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil-contaminated, remediated and uncontaminated soils planted to barley and field pea. *Plant Soil* **173**: 3-1.
- Zamora, E., García, J. V. 2009. Fitotoxicidad Aguda De Ripios Impregnados Con Fluidos Base Aceite Mineral En Condiciones De Laboratorio. Gerencia de Ambiente e Higiene Ocupacional. INTEVEP. PDVSA. *Visión Tecnológica*. 27 p. En Prensa.
- Zamora, L., Carrillo, V.M., Hernández-Valencia, I., González, B. V. 2009. Impactos de la Industria Petrolera sobre Morichales: Implicaciones Ecológicas. Informe Técnico 12773. Centro de Ecología y Ambiente. INTEVEP. PDVSA. 29 p.

8. ANEXOS

Tabla 8. Capacidad germinativa de *Mauritia flexuosa* sembradas en suelos contaminados con diferentes concentraciones de hidrocarburo de petróleo (HCPP) pesado en el suelo.

Dosis	Porcentaje de Germinación (%)	Elongación del Pecíolo (mm)	Índice de Germinación (%)
0% HCPP	26,67	39,1	100
0,25% HCPP	30	31,8	91,6
0,5% HCPP	26,67	34,2	87,5
1% HCPP	26,67	40,0	102,2
2% HCPP	23,33	39,0	87,1
4% HCPP	26,67	38,8	99,3
8% HCPP	10	27,6	26,5
16% HCPP	6,67	25,0	15,9
32% HCPP	0	0	0

El número de días en completar la germinación se encuentra en la sección de resultados (Tabla 4).

Tabla.9. Efecto de dosis crecientes de hidrocarburo de petróleo pesado (HCPP) en el suelo, sobre la germinación de *Mauritia flexuosa*, representado en unidades Probit.

Dosis	Log 10 de la concentración	Porcentaje de semillas no germinadas (%)	Porcentaje de efecto (%)	Probit empírico
Control	-	73	0	-
1% HCPP	0	73	0	-
2% HCPP	0,3	77	13	3,82
8% HCPP	0,9	90	62	5,31
16% HCPP	1,2	93	75	5,67
32% HCPP	1,5	100	100	9,09

Tabla 10. Supervivencia de plántulas y crecimiento del vástago en *Mauritia flexuosa* durante los dos meses de exposición a diferentes dosis de petróleo pesado.

Dosis	Supervivencia (%)	Crecimiento (cm)
0% HCPP	100	7,3
4% HCPP	100	5,1
8% HCPP	100	6,7
16% HCPP	83,33	2,2
32% HCPP	66,67	0,9
64% HCPP	16,67	-

El crecimiento en 64% no se consideró debido a que una sola plántula sobrevivió. Los resultados de la longitud máxima y producción de biomasa del vástago y raíz, se encuentran dispuestos en cuadros en la sección de resultados (Tabla 5 y 6).

Tabla 11. Porcentajes, tiempos de germinación y mortalidad de brotes de *Mauritia flexuosa* en los diferentes tratamientos y condiciones.

Tratamiento o condiciones	Germinación (%)	Tiempo de Germinación (días)	Mortalidad de brotes (%)
Control	23,33	118,1	28,57
Remojo en agua corriente	30	115,0	20
Escarificación por abrasión en la zona del opérculo	43,33	109	46,15
Escarificación por abrasión de toda la testa	23,33	58,8	85,71
Escarificación química (H ₂ SO ₄ ; 15 minutos)	16,67	104,8	60
Escarificación química (H ₂ SO ₄ ; 30 minutos)	6,67	102,5	50
Escarificación química (H ₂ SO ₄ ; 45 minutos)	0	-	-
Escarificación química (H ₂ SO ₄ ; 60 minutos)	0	-	-
Sacos de polipropileno, sobre plataforma	63,33	59,8	36,84
Estufa (35°C)	6,67	71,5	50
Directamente en suelo bajo lamina de aluminio	36,67	72,5	63,64

Tabla 12. Desarrollo del vástago en plántulas de *Mauritia flexuosa* durante los primeros 120 días de desarrollo.

Tiempo	Elongación promedio del vástago (mm)
15 días	18,3
30 días	47,6
45 días	87,6
60 días	102,1
75 días	114,6
90 días	128,6
105 días	150,8
120 días	187,2