

Modalidad de Participación: Modalidad de Proyectos independientes de grupos de investigación en el marco de líneas activas y protocolizadas de investigación.

PROPUESTA DE INVESTIGACIÓN

Nombre del proyecto

Comportamiento de las características físicas, químicas y microbiológicas en suelos de vocación agrícola artificialmente contaminados con Gasolina y Diésel en el piedemonte llanero del Municipio de Cumaral (Meta).

Investigador (a) principal

María Alexandra Méndez Leal, Microbióloga Industrial de la Pontificia Universidad Javeriana, Beca por Agencia Española de Cooperación Internacional -AECI- y prácticas por libre en el grupo de Biorremediación de la Universidad de Barcelona (España), Especialista en Gestión Ambiental Sostenible de la Universidad de los Llanos, cursando maestría en Investigación de la Comunicación Científica en la Universidad Internacional de Valencia. Fecha de vinculación a la USTA sede Villavicencio desde el 2013, como docente tiempo completo.

Co-investigador

Cesar Augusto Riveros Romero, Ingeniero Agrónomo, Tesista de Magister Science Agroforestería Tropical, UDCA. Experiencia profesional en Investigación socio-económica y planificación de territorio; investigación agropecuaria y agroforestal con énfasis en suelo, nutrición vegetal, fisiología vegetal; establecimiento y manejo de plantaciones forestales, caucho, palma y producción ganadera. Vinculado en USTA sede Villavicencio desde el 2016, como docente tiempo completo.

Estudiantes auxiliares

José David Salinas Vera. Estudiante adscrito al semillero BioEngineering USTA de la facultad de Ingeniería Ambiental.

Nathalia Andrea Vivas Díaz. Estudiante adscrito al semillero BioEngineering USTA de la facultad de Ingeniería Ambiental.

Resumen

Una de las principales fuentes de contaminación de suelo es el vertimiento accidental o incidental de hidrocarburos de petróleo, ya que cerca de 8.8 millones de toneladas métricas son derramadas sobre el suelo cada año (Rhykerd *et al*, 1998). Tan solo en Colombia durante los últimos 35 años se han derramado 4.1 millones de barriles de petróleo, de los cuales 760 mil barriles fueron vertidos entre 2009 y 2015, contaminando fuertemente el agua y el suelo de 129 municipios (Murillo, 2016).

Los efectos producidos por la contaminación del suelo provocada por Gasolina y Diésel son negativos, ya que los compuestos químicos que los conforman son tóxicos y ocasionan cambios en las propiedades físicas, químicas del suelo y su microbiota (Páez y Bautista, 2012). La microbiota del suelo ha demostrado ser esencial para el mantenimiento de los procesos ecosistémicos y es la base del equilibrio de los procesos (Bartha, 1986), por lo que la contaminación con hidrocarburos conlleva graves consecuencias en la salud humana y del medio ambiente (Benavides, 2006).

Particularmente para el departamento del Meta existen pocos estudios que analicen el comportamiento de los suelos impactados por hidrocarburos del petróleo y sus derivados.

Por tanto, del proyecto “Estudio del comportamiento, dinámica, implicaciones y estrategias de recuperación ante los derrames de hidrocarburos en el suelo, agua de escorrentía y emisión de gases del Piedemonte Llanero”, el presente documento es la primera fase de un estudio del comportamiento de los suelos contaminados con derivados de hidrocarburos en el Meta. El objetivo *es simular el derrame accidental de Gasolina y Diésel en un suelo con vocación agrícola, en condiciones controladas por medio de la metodología de parcelas de escorrentía, en relación de tres (3) tratamientos (Testigo, Gasolina y Diésel), dos (2) dosis y tres (3) repeticiones, donde se evaluará el comportamiento y determinará las correlaciones existentes entre las características físicas, químicas y la microbiota del suelo en grupos funcionales de los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno (fijadores del nitrógeno), fósforo (solubilizadores de fosfato) y celulolíticos teniendo como área experimental las instalaciones del Instituto Agropecuario Guacavía, ubicado en el piedemonte del departamento del Meta.*

Palabras clave: Suelo, derrame de diésel, derrame de gasolina, microorganismos, ciclos biogeoquímicos, piedemonte llanero, Meta.

Problema de Investigación

Los derrames de combustibles derivados de hidrocarburos del petróleo sobre el suelo, afectan negativamente el desarrollo de plantas, animales y microorganismos (BAE, 2007), ocasionando modificaciones en el comportamiento de los suelos debido al cambio de las características físicas y químicas, como el pH o a la introducción de metales pesados y otros compuestos que afectan la biota debido a su toxicidad (Ekundayo y Obuekwe, 2000; García *et al* 2010).

Y aunque, en el piedemonte del departamento del Meta se presenta las siguientes condiciones:

- Es la zona de los Llanos Orientales, más favorable para la agricultura; hace parte del 21,9% de suelos con capacidad agropecuaria (Rippstein, Escobar y Mota, 2001; IGAC, 2016)
- Según las proyecciones de población 2005-2020, realizadas por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística –DANE- (2013), estima que la población para el presente año en el departamento está en 992.162 habitantes, en su mayoría ubicados en el Piedemonte Llanero.

- Hace parte de uno de los tres ejes principales y claves para el desarrollo turístico, denominado “Ruta Piedemonte Llanero”, en donde, la afluencia de visitantes para la Semana Santa del presente año, estuvo cercana a los 120.000 turistas, la mayoría de los destinos se ubicaron en el Piedemonte Llanero (SITUR, 2017).
- De acuerdo con el listado de estaciones de servicio automotriz autorizadas certificadas emitida el 21 de septiembre de 2015, por el Ministerio de Minas y Energía el departamento cuenta con 182, de las cuales más de 70% se ubican sobre el piedemonte llanero (MinMinas, 2015).
- La ciudad capital, Villavicencio, ubicada en el piedemonte, de acuerdo con el Diagnóstico del Plan de Movilidad, realizado por la Universidad Nacional de Colombia (2013), ha tenido un incremento del 32% del parque automotor, no así la infraestructura vial, razón por la cual se presentan congestiones que impiden la adecuada movilidad y que pueden desencadenar accidentes.
- Así mismo, existe alto flujo de vehículos de carga, porque, aunque la Agencia Nacional de Hidrocarburos (ANH), en el tercer trimestre de 2016, informo el descenso de 13,5% en la producción de petróleo en el país, respecto al mismo periodo en el año anterior; el departamento del Meta y Casanare continúan teniendo una destacada participación del 70% como productor de crudo de petróleo (lidera la producción el departamento del Meta con un registro de 432.128 barriles promedio por día calendario –bpdc) (Banco de la República, 2016), y además, el departamento es la despensa agrícola y el mayor surtidor de alimentos para Bogotá, cubriendo hasta el 48% de la demanda de la capital (Gobernación del Meta, 2015).
- El Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses informó 241 muertes debida a accidentes de tránsito para el 2016, estas ocurrieron en su mayoría en las ciudades ubicadas sobre el Piedemonte Llanero.

Es decir, que aunque existe un alto trasiego de vehículos particulares y de carga, los cuales emplean como combustible gasolina y diésel (o más conocido en Colombia como Aceite Combustible para Motores –A.C.P.M.-), y que ante accidentes (no intencionados) o incidentes (intencionados) se ocasionan derrames de combustible al suelo, estas fugas no se encuentre registradas, ni se les hace seguimiento, es decir la información disponible, se limita a protocolos para la prevención y atención de derrames de hidrocarburos de petróleo en vehículos de carga, en donde no se menciona la base física, química y no se presenta la evidencia, con respecto a que los microorganismos nativos sean efectivamente los que degraden los compuestos contaminantes (Torres, 2014).

Por tanto, se presenta esta propuesta como la fase I, del macro-proyecto “Estudio del comportamiento, dinámica, implicaciones y estrategias de recuperación ante los derrames de hidrocarburos en el suelo, agua de escorrentía y emisión de gases en el Piedemonte Llanero”, esta primer fase busca responder *¿cómo varían las correlaciones entre los parámetros físicos, químicos y microbiológicos (a través del recuento de grupos funcionales de microorganismos como, fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos) en relación de tres (3) tratamientos (Testigo, Gasolina y Diésel), dos (2) dosis y tres (3) repeticiones en un periodo de seis meses en un suelo con vocación agrícola del piedemonte llanero ubicado en predios del Instituto Agrícola Guacavía, del departamento del Meta?*

Objetivo General

Evaluar las características físicas, químicas y microbiológicas del suelo simulando un derrame accidental de derivados del petróleo (gasolina y diésel), en un área de uso agrícola del piedemonte del Municipio de Cumaral (Meta), que permita determinar el comportamiento del suelo por exposición a estos contaminantes.

Objetivos Específicos

- Analizar los cambios en las características físicas y químicas del suelo en un ensayo experimental *in situ* con dos tipos de contaminantes (gasolina y diésel).
- Evaluar la densidad microbiana de bacterias y hongos asociados a los grupos funcionales de microorganismos del suelo en los ciclos biogeoquímicos de nitrógeno, fósforo y carbono, en un ensayo experimental *in situ* con dos tipos de contaminantes (gasolina y diésel).
- Analizar la correlación entre las características físicas, químicas y la densidad de los microorganismos en los suelos contaminados artificialmente con gasolina y diésel a diferentes concentraciones.

Justificación

Aunque los efectos del vertimiento de hidrocarburos de petróleo en el suelo son graves, los estudios o información disponible acerca del comportamiento de los suelos del Piedemonte Llanero en el departamento del Meta son escasos o nulos.

Este tipo de estudios son de importancia si se tienen en cuenta:

- El Piedemonte llanero hace parte del 21,9% de suelos con capacidad agropecuaria, destacándose como una de las principales actividades económicas del departamento; los principales cultivos son el arroz, palma africana, plátano, maíz, cacao, cítricos y otros frutales (IGAC, 2016).
- Las proyecciones del censo realizado por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística, DANE (2013), en el cual se calcula que actualmente, la población del departamento del Meta, está alrededor de los 992.162 habitantes, distribuidos en 29 municipios, en donde la mayor densidad poblacional se encuentra a lo largo del piedemonte llanero.
- Esta zona pertenece a una de las tres vías importantes para el desarrollo turístico del departamento, denominada la “Ruta Piedemonte Llanero” así destacada en el eje 3 de Sustentabilidad Económica y del Territorio, del Plan

de Desarrollo Económico y Social del Departamento del Meta para el periodo 2016-2019 (Gobernación del Meta, 2016).

- De acuerdo con el listado de Estaciones de servicio automotriz certificadas publicado el 21 de septiembre del 2015 por el Ministerio de Minas y Energía, en el departamento hay 182 estaciones, de las cuales 125 se ubican en las ciudades del piedemonte llanero (MinMinas, 2015).
- Según el informe del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, durante el 2015, reporto un total de 811 accidentes de transporte.

Es decir, debido a la elevada cantidad de habitantes y sobre todo el alto flujo de vehículos particulares y de carga, en el momento de accidentes o incidentes, generan vertimientos de contaminantes al aire, agua y suelo.

El presente estudio evaluará como primera fase, el comportamiento del *suelo*, en un periodo de seis meses, a partir de determinar las correlaciones de las variaciones en las características físicas, químicas y microbiológicas en un suelo de vocación agrícola ubicado en el Piedemonte Llanero que ha sido contaminado o con gasolina o con diésel.

El efecto de los derrames de hidrocarburos del petróleo en suelo de capacidad agrícola puede ocasionar deterioro económico y social debido a la inutilización para la producción de cultivos o ganadería, como también alteración de los ciclos biogeoquímicos lo que ocasiona pérdida de fertilidad de los suelos, afectación en el crecimiento adecuado de las plantas y daño en la salud a humanos y otras especies, debida a los compuestos tóxicos (mutagénicos y carcinogénicos) (Cavazos, Pérez & Mauricio, 2014).

Se determinó como fase inicial estos dos compuestos, debido a la alta frecuencia de su empleo como combustibles de guadañadoras, bombas para extracción de agua, estufas, vehículos automotores de combustión interna, autos familiares, buses, busetas, camiones y otros vehículos de carga, que desafortunadamente ante accidentes (no intencionados) o incidentes (intencionados) producen fugas de combustibles y son vertidos al suelo.

Este estudio, además de aportar información básica del comportamiento de los suelos del Piedemonte Llanero o área de transición entre la cordillera, la llanura y la Serranía de La Macarena; aportará información relevante para tomadores de decisiones y comunidad en general, sobre los posibles problemas causados por contaminación de suelo agrícola con gasolina y diésel, así como las posibles soluciones a dicho problema. Esta será la primera fase del proyecto “Estudio del comportamiento, dinámica, implicaciones y estrategias de recuperación ante los derrames de hidrocarburos en el suelo, agua de escorrentía y emisión de gases del Piedemonte Llanero”.

Marco Teórico

Actualmente, del total de suelos impactados con contaminantes en el mundo, cerca del 70% son debidos a la presencia de hidrocarburos (Arrieta et al, 2012). De acuerdo con los datos del Centro de Datos Europeos del suelo entre 2011–2012, los hidrocarburos del petróleo contribuyeron a la contaminación del 24 % en suelo y al 22 % en aguas subterráneas, específicamente el benceno, tolueno, etilbenceno y xileno o más conocidos como los BTEX, (compuestos altamente tóxicos y

cancerígenos) aportaron entre el 10 y 15 % de la contaminación (Simpanen et al, 2016).

Aunque esta situación es alarmante y Colombia a lo largo y ancho de su territorio nacional es potencialmente vulnerable a eventos de origen natural y antrópico de ser afectado por contaminación proveniente de derrame de hidrocarburos, derivados y sustancias nocivas, los esfuerzos se han concentrado en el recurso agua, que aunque es muy importante, como se constata en el Plan Nacional contra Derrames de Hidrocarburos de Aguas Marinas, Fluviales y Lacustres (Moreno, 2006), para el mantenimiento del equilibrio ecosistémico se ha de tener en cuenta también al suelo, así es que hasta la fecha para este recurso no se ha desarrollado una legislación, que determine el diseño y realización de actividades dirigidas a prevenir, mitigar y corregir los daños que los derrames de combustibles puedan ocasionar.

Entre los países latinoamericanos que poseen normatividad que determine la calidad del suelo ante eventos de contaminación por hidrocarburos del petróleo y sus derivados, destaca, México, a partir de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales -SEMARNAT-, desde el 2012, posee la norma oficial, en donde se exponen los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación, informando que en el medio tropical, los hidrocarburos que podrían perdurar después de un derrame o descarga son de la fracción media (C11-C28) y la fracción pesada (C28 y mayores).

Según Cavazos et al (2014), en “México existen extensas áreas contaminadas con hidrocarburos procesados del petróleo, debido principalmente a derrames, así como a las actividades propias de la industria petrolera. Se estima que en los últimos 20 años han provocado pérdidas por más de 50 mil millones de dólares, con mayor impacto en el aspecto ambiental y agrícola”, informando que cerca del 42 % del total de las emergencias ambientales entre 1993 y 2002 fueron debidas a siniestros por escapes de hidrocarburos.

Cabe recalcar que los vertimientos de hidrocarburos en suelos, afectan la flora, fauna y microbiota, a causa de la toxicidad, persistencia y bioacumulación de sus componentes, aunque la toxicidad de los hidrocarburos de petróleo, tanto alifáticos como aromáticos, es muy variable, pero, en general, debido a su biodisponibilidad aquellos de menor peso molecular son más tóxicos (Adams et al, 2008).

Por tanto, se encuentran directamente afectados ante estos derrames, los microorganismos (bacterias, levaduras, hongos, virus, etc), debido a que participan en los ciclos biogeoquímicos de sustancias orgánicas e inorgánicas, proveyendo y regulando los servicios ecosistémicos brindados por el suelo (Levine, White & DeLaune, 2017).

Es así, que en un gramo de suelo pueden encontrarse hasta 10^7 microorganismos cultivables en laboratorio, y aunque el 99% no se han logrado aislar (Maduell, et al, 2007) se requiere estudiar las poblaciones microbianas presentes en el suelo de la forma más representativa posible, es decir, en busca de sus capacidades metabólicas (Iwamoto & Nasu, 2001; Castellanos et al, 2013).

Grupos funcionales de microorganismos

Los microorganismos participan en la realización de complejos procesos metabólicos en el suelo. Debido a que son determinantes en las características de fertilidad de los suelos, se les ha estudiado para la regulación y mantenimiento de nutrientes como el carbono, nitrógeno y fósforo, procesos en donde los microorganismos son claves y permiten monitorear, proveyendo la evaluación de problemas de contaminación en suelos de interés agrícola (Navas, Benito & Masaguer; 2009).

En el presente estudio, se determinará por recuento en medios de cultivo específicos, la actividad enzimática, de bacterias y hongos con propiedades celulolíticas, fijadores de fósforo y solubilizadores de nitrógeno, esto permite determinar parámetros específicos ya que son reacciones concretas y dependen de sustratos definidos.

Características de la gasolina y del diésel

Al someter el crudo de petróleo, a los puntos de ebullición, entre el rango de 0 a 400 °C se obtienen gasolinas, querosenos, gasóleos y similares

Las gasolinas, comprenden una gama de productos destinados a los motores de combustión interna del transporte vehicular, estufas, lámparas, limpieza con solventes y otras aplicaciones). La fórmula compuesta básica es isooctano C_8H_{18} , de densidad de 680 g/L. (Ortuño, 2009)

Los gasóleos, son productos de amplio uso como combustible en motores diésel de vehículos pesados, se conoce por el término genérico de “diésel” y en Colombia, también se le denomina Aceite Combustible para Motores -A.C.P.M-, la densidad es de 832 Kg/m³ (0,832 g/cm³), contiene una mezcla entre C_{10} hasta C_{19} , constituido aproximadamente por 64% de hidrocarburos alifáticos especialmente por isoparafinas y cicloparafinas, un 35% de hidrocarburos aromáticos especialmente naftalenos y alcalobencenos y 1-2% de hidrocarburos no saturados o olefínicos, óxidos de carbono, sulfuro y nitrógeno; con olor a Keroseno(Ortuño, 2009).

En Colombia, se comercializa el diésel de 50 ppm de azufre, en cumplimiento de la ley 1205 de julio 14 de 2008 “Por el cual se mejora la calidad de vida a través de la calidad del diésel y se dictan otras disposiciones” y para la gasolina se comercializa con un contenido de azufre de 30 ppm, a través de la resolución 1180 de 2006, del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, la cual regula los criterios ambientales de calidad de los combustibles líquidos y sólidos utilizados en hornos y calderas de uso comercial e industrial y en motores de combustión interna de vehículos automotores (MinMinas, 2007; Universidad Nacional de Colombia, 2009).

Actualmente y en busca de proteger el ambiente, se controlan cinco tipos de compuestos conocidos como productores de cáncer, que son emitidos por los vehículos: benceno, 1,3 butadieno, formaldehído, acetaldehído e hidrocarburos aromáticos policíclicos –HAP-, el instituto Nacional para la Salud y Seguridad Ocupacional de Estados Unidos (NIOSH de sus siglas en inglés), la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia para la Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (U.S. EPA), el programa de toxicología Nacional afirma y confirman el aumento en la incidencia a desarrollar tumores cancerígenos benignos y malignos a partir del contacto prolongado con diésel y gasolina (El tiempo, 2012; OMS, 2016).

Características Edafoclimática del Área de Estudio

El área de estudio se sitúa en las coordenadas elipsoidales latitud 4° 6'43.41" N y longitud 73°39'31.31"O sobre el municipio de Cumaral (Meta).

De este, se destacan dos regiones con diferentes características geomorfológicas, una montañosa al Occidente y Noroccidente, formada por el sistema montañoso de la Cordillera Oriental y la otra, una planicie inclinada ligeramente hacia el Oriente y el Nororiente (Acuerdo No. 287 de 2015).

El clima del municipio se encuentra bajo la influencia de vientos alisios y desplazamientos de la Zona de Confluencia Intertropical (ZCIT), los cuales determinan un clima de tipo estacional Monomodal, dando como resultado un clima cálido y uno muy húmedo (Gobernación del Meta; Instituto Geográfico Agustín Codazzi -IGAC, 2004).

La altura media del municipio es de 467 msnm, presentando temperaturas medias de 4°C a 28°C, con precipitaciones promedio de 4300 mm anuales, el régimen de precipitación se caracteriza por tener un período lluvioso de abril a noviembre y un período seco entre diciembre a marzo (Correa, Ruiz, & Arévalo, 2006).

Según (Rincón, Bueno, Álvarez, & Pardo, 2010) en su estudio de oferta climática del piedemonte y la altillanura en la Orinoquia Colombiana, muestra la condiciones climáticas del municipio con valores para la precipitación anual de 4008 (mm/año), Evaporación anual de 1305 (mm/año), Temperatura media de 25.7 °C, Temperatura Media máxima 30.5 °C, Temperatura Media Mínima 20.8 °C, N°. Días con lluvia (Días) 100 – 250, Velocidad media anual del viento de 1.1 (m/seg).

Desarrollos en el Piedemonte Llanero

Del departamento del Meta, el piedemonte es la zona de los Llanos Orientales, más favorable para la agricultura, haciendo parte del 21,9% de suelos con capacidad agropecuaria; lo que indica que el uso del suelo corresponde con su capacidad (IGAC, 2016).

De acuerdo con las proyecciones de población 2005-2020, realizadas por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística –DANE- (22013), estima que la población para el presente año en el departamento está en 992.162 habitantes, en su mayoría ubicados en el Piedemonte Llanero.

Desde la Administración Pública, se le ha determinado como uno de los tres ejes principales y claves para el desarrollo turístico, denominado “Ruta Piedemonte Llanero”, en donde, la afluencia de visitantes para la Semana Santa del presente año, estuvo cercana a los 120.000 turistas, en donde la mayoría de destinos se ubicaron en el Piedemonte Llanero (SITUR, 2017).

Aunque en el departamento del Meta, para en el 2013, se produjo 280.000 barriles de petróleo diario en Campo Rubiales, el pozo más grande del departamento y el país, lo que registraba el 5,7% del PIB Nacional (Dávila, 2016) , el informe económico nacional (Banco de la República, 2016) presenta que la Agencia

Nacional de Hidrocarburos (ANH), en el tercer trimestre de 2016, informo el descenso de 13,5% en la producción de petróleo en el país, respecto al mismo periodo en el año anterior; aun así, el departamento del Meta y Casanare, continúan teniendo una destacada participación del 70% como productores de crudo de petróleo (departamento del Meta, lidera la producción con un registro de 432.128 bpd, versus Casanare con 162.124 bpd), contrastado con el 19,3 % de los departamentos de Santander, Boyacá, Putumayo y Arauca. Por tanto, el alto flujo vehicular de carga, puede generar accidentes e incidentes, vertiendo gasolina y diésel al suelo.

El municipio de Villavicencio, ha tenido en los últimos años un crecimiento de la población excesivo y desordenado, donde en 2014, la población en el departamento del Meta fue de 943.024, la mayoría urbana y concentrada en Villavicencio (Dávila, 2016), en donde la infraestructura vial no atiende las necesidades del contexto, lo que ha ocasionado que sea reconocido como la ciudad colombiana con mayor número de muertes por accidentes automovilísticos (Plan de Movilidad, 2013), esta siniestralidad, produce derrames accidentales e incidentales, ocasionando fugas de grasas, aceites y combustibles a los que no se les hace seguimiento alguno.

Por tanto se plantea como primer fase o fase preliminar la presente propuesta con el objetivo de evaluar el comportamiento del suelo a través de la determinación de las características físicas, químicas y microbiota asociada a los ciclos biogeoquímicos del carbono (celulolíticos), fósforo (solubilizadores de fosfatos) y nitrógeno (fijadores de nitrógeno), siguiendo el protocolo de muestreo de acuerdo con la Norma D4700-91 de la guía estándar para muestreo de suelo en la zona vadosa (zona no saturada) (1995), NTC4113-2/2007 y NTC 4113-6/2007, , simulando un derrame de gasolina y diésel *in situ* en suelo no disturbado, mediante parcelas de escorrentía, de acuerdo con Morales (1996), las medidas para el diseño de cada uno de los componentes de la parcela de escorrentía se determinan dependiendo del área que se desea estudiar, estas consisten en la selección de un área específica de terreno delimitada que impide el flujo de entrada del agua de escorrentía, con el fin de identificar y establecer la ruta de migración y el destino del contaminantes en un área del suelo del Piedemonte Llanero del Instituto Agrícola Guacavía del Municipio de Cumaral (Meta).

Marco Metodológico

Área de investigación

Se desarrollará sobre la cordillera oriental en el piedemonte llanero en predios del Instituto Agrícola Guacavía del municipio de Cumaral, debido al interés del estudio de la determinación del comportamiento de suelos de vocación agrícola (Figura 1).

Figura 1. Localización y áreas Instituto Agrícola Guacavia.
Fuente. Elaboración Propia

Parcelas de Escorrentía

Las parcelas de escorrentía(figura 2), hace referencia al terreno delimitado en el cual se realizará la contaminación artificial con los derivados del petróleo.

Se aplicará la metodología de parcelas de escorrentía por triplicado. Posterior a esta parcela se encuentra ubicado un canal colector el cual recogerá el agua de escorrentía, seguido a esto se implementan los cilindros receptores donde se almacena el material obtenido por efecto de escorrentía que son transportados cilindro a cilindro por medio de partidores, estos son conductos que atraviesan los cilindros en secuencia por donde se transporta el material (Morales, 1996).

Parcela de Escurrentia 1.80m x 1.00m

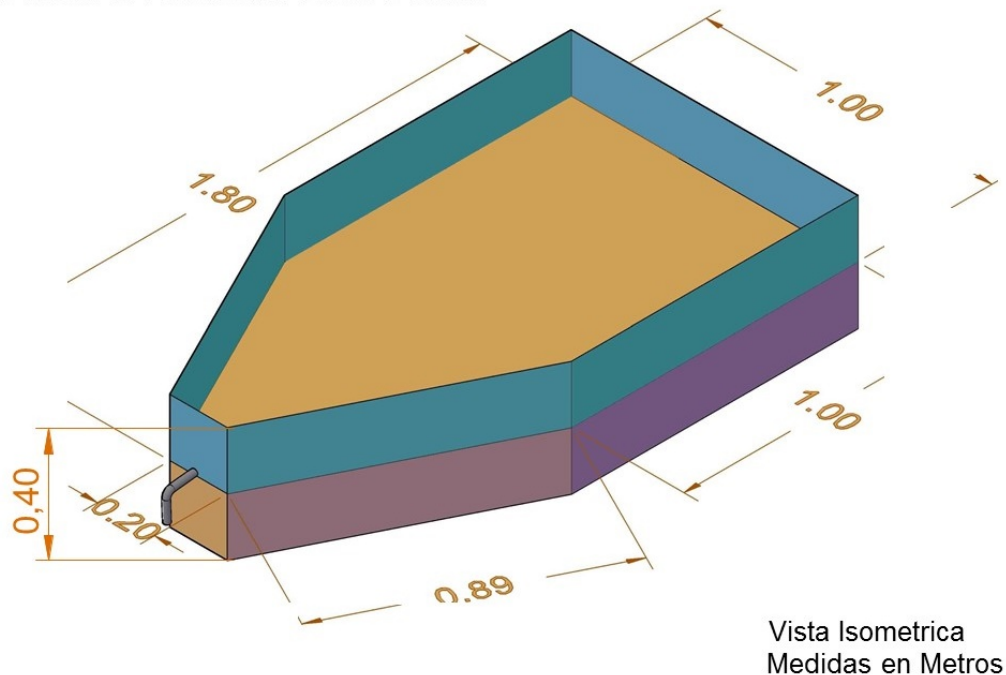


Figura 2. Esquema de medidas de la parcela de escurrentia.

Fuente. Elaboración Propia

Cada parcela tendrá un tamaño de 1 metro x 1 metro, ubicadas en el sentido de la pendiente del terreno menor de 2%, de este modo se determinará la homogeneidad de la unidad de muestreo, el material de las parcelas será de aluminio, esta estará incrustada al suelo aproximadamente 20 cm por debajo y 20 cm por encima de la superficie del terreno.

Con respecto, al agua de escurrentia, esta será contenida, para posteriormente desecharla y evitar el vertimiento en aguas superficiales.

Los principales componentes de las parcelas son

- Lámina que aísla la parcela de entrada de agua de escurrentia y permite la evaluación de las condiciones de esta con la precipitación, recogiendo el agua de escurrentia y el sedimento proveniente de la parcela.
- Canal colector situado en la parte inferior de la parcela.
- Canecas receptoras para almacenar los sedimentos.
- Pluviómetro que mide la cantidad de agua precipitada en mm.

Criterios de selección de sitio

- Dentro de las instalaciones del Instituto Agrícola Guacavía.
- Retirados mínimo 5 metros de cuerpos de agua superficiales.
- 5 metros de distancia de bosques secundario.
- La pendiente de la parcela debe estar orientada sin afectar la vegetación natural (si este fuera el caso debe estar retirada mínimo 20 metros).

Tratamientos a evaluar

Para la evaluación se establecerán 3 bloques experimentales, cada bloque con 7 tratamientos ubicados dentro de parcelas de escorrentía, con condiciones medioambientales y edáficas propias de la región, distribuidas de la siguiente manera:

1. Tratamiento 1. Testigo
2. Tratamiento 2. Diésel (Dosis 1: 1/4 galón)
3. Tratamiento 3. Diésel (Dosis 2: ½ galón)
4. Tratamiento 4. Diésel (Dosis 3: 1 galón)
5. Tratamiento 5. Gasolina (Dosis 1: ¼ galón)
6. Tratamiento 6. Gasolina (Dosis 2: ½ galón)
7. Tratamiento 7. Gasolina (Dosis 3: 1 galón)

La distribución de los tratamientos será con un diseño experimental de Bloques Completos al Azar, con 15 parcelas.

Muestreo

Siguiendo lo recomendado en la NTC4113-2/2007, se realizarán muestreos disturbados compuestos de suelo contaminado, y de acuerdo con la NTC4113-4/2007, debido a que el área de muestreo esta entre las 0 a 2 hectáreas, se tomará una (1) muestra de 1000 g a distribuirse así: aproximadamente 100 gramos se ubicará en una frasco tapa rosca ámbar estéril de 250 ml, para procesar en el laboratorio de Microbiología de la USTA, y el suelo restante en dos bolsas de polietileno negra estériles con cierre ziploc, una parte para la determinación de los parámetros físicos a determinar en el laboratorio de suelos de la USTA y la cantidad restante, para enviar a laboratorio certificado, en busca de la determinación de los parámetros químicos.

A cada parcela se le realizará el protocolo de muestreo a una profundidad aproximada de 20 cm, empleando un barreno previamente esterilizado (con alcohol al 75%) entre cada muestreo.

Posteriormente se etiquetará y se transportará y almacenarán entre 4°C a 6°C, hasta procesarlas en laboratorio.

Los tiempos de muestreo serán, el tiempo cero, luego de 24 horas de aplicado el contaminante y cada 30 días durante los 6 meses de duración del estudio, para evaluar el comportamiento de las parcelas a través del tiempo.

Datos climatológicos

En cada parcela se ubicará un pluviómetro, para registrar las aguas por precipitación. Se registrará cada 12 horas, como mínimo 1 vez al día.

Se tomarán variables como la temperatura máxima y mínima, de manera que podemos hacer análisis básicos climáticos del área de estudio. Esta información se contrastará con las estaciones del IDEAM.

Características Físicas

Se realizará la evaluación de la textura por el método de Bouyoucos o Hidrómetro, siendo esta variable la más empleada, para evaluar las otras propiedades como, estructura, capacidad de retención de humedad.

- **Método de Bouyoucos**

Permite determinar el tamaño de partícula y textura, determinando los sólidos en suspensión por medio del hidrómetro. Del peso total de suelo muestreado, se tamiza por malla No. 200, se pesan 50 gramos de este suelo totalmente seco, luego se adiciona 4 cm³ de Silicato de Sodio, como agente defloculante, previamente disuelto en suficiente agua.

La mezcla se transfiere aun vaso de agitación eléctrica durante 7 minutos aproximadamente, luego se ha de pasar a una probeta de 1000 mL, con la precaución emplear la totalidad de la muestra, a continuación, se adiciona agua hasta completar la capacidad volumétrica de la probeta; luego se tapa y agita vigorosamente durante 60 segundos, hasta resuspender totalmente la mezcla. A la vez se prepara un blanco, en otra probeta graduada con 1 litro de agua y 4cm³ de Silicato de Sodio.

Una vez se tienen las dos probetas, se introducen los hidrómetros en cada una, registrando el tiempo hasta la estabilización de la primera lectura, y luego se duplican los tiempos (a 2 minutos, a 4 minutos, etc), a la vez se ha de registrar la temperatura del material analizado

- **Densidad Aparente**

Afecta directamente la textura, está expresa el contenido de sólidos por unidad de volumen (g/cm³); de la muestra, se pesan 10 g de suelo seco, este se adiciona en un picnómetro previamente pesado, se completa el volumen hasta la mitad con agua destilada, luego se removerá el aire introducido en el picnómetro colocándolo en un desecador para vacío por varios minutos. A continuación, proceder a pesar el picnómetro con el contenido, posteriormente se completa hasta el volumen total del recipiente con agua destilada, se tapa y pesa nuevamente.

Características Químicas

Las metodologías para la determinación de las variables químicas del suelo, serán determinadas en un laboratorio certificado (tabla 1)

Tabla 1. Pruebas para identificar en laboratorio certificado

pH: potenciómetro, relación suelo agua 1:2,5.
Materia orgánica: Walkey and Black
Aluminio intercambiable: KCL
Fósforo: Bray II.
Potasio: método acetato de amonio 1N pH 7
Calcio: método acetato de amonio 1N pH 7

Magnesio: método acetato de amonio 1N pH 7
Azufre: NTC 5404.
Sodio Intercambiable: método acetato de amonio 1N pH 7
Manganeso; Doble ácido
Zinc; Doble ácido
Cobre; Doble ácido
Hierro; Doble ácido
Capacidad de intercambio catiónico: Suma de cationes.
Determinación de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP): Cromatografía Líquida de Alta Presión.

Fuente. Elaboración propia

Características microbiológicas

- **Recuento de microorganismos viables a partir de muestras de suelo**

Se pesarán 10 gramos de la muestra de suelo, siguiendo las recomendaciones de la NTC4113-6, llevándola a un frasco de dilución con 90 mL de solución salina al 0,85%; se homogenizará en un shaker durante 30 minutos a 180 rpm. A partir del cual se realizarán diluciones seriadas en tubos con 9 mL de solución salina al 0,85% hasta la dilución 10^{-8} .

A partir de cada tubo se realizará una siembra en profundidad de 1 mL por triplicado de microorganismos asociados a capacidades bioquímicas como celulolíticos, solubilizadores de fosfatos y fijadores de nitrógeno, a través de aislamiento en medios selectivos, conteo e identificación fenotípica:

Microorganismos celulolíticos, mediante el medio, recomendado por Lovera y Ramírez, 2009, en gramos por litro: 2 g celulosa, 0,5 g K_2HPO_4 ; 0,25 g $MgSO_4$; 0,2 g rojo congo; 2 g gelatina sin sabor, 11 g agar y 0,21 g Nistatina; 1 L agua destilada y pH 7,2.

Microorganismos solubilizadores de fosfatos, según Avellaneda & Torres, (2013): 0,5 g $(NH_4)_2SO_4$; 0,2 g KCl; 0,3 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,004 g $MnSO_4$; 0,002g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,2 g NaCl; 10 g glucosa; 0,5 g extracto de levadura, 0,1 g purpura de bromocresol; 5 g $Ca_3(PO_4)_2$; 15 g agar; 1 L de agua destilada y pH 7,2.

Microorganismos fijadores de nitrógeno, según Avellaneda & Torres, (2013), se empleará el medio selectivo carente de nitrógeno, con modificaciones (gramos por litro): 5 g manitol; 5 g ácido málico; 0,5 mL lactato de sodio (60 %, v/v); 0,8 g K_2HPO_4 ; 0,2 g KH_2PO_4 ; 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,06 g $CaCl_2$; 0,1 g NaCl; 0,001 g extracto de levadura; 0,0025 g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; 0,0024 g Na_2 EDTA; 0,0018 g $FeSO_4$; 5 μ g biotina; 10 μ g ácido p-amino benzoico; 18,0 g, agar; 2,0 mL azul de bromotimol (0,5 % en etanol 95 %), 1 L de agua destilada, pH 7.

Se llevarán a incubación a 25°C por dos días para bacterias y seis días para hongos.

- **Caracterización morfológica y perfil bioquímico e identificación**

Se informará el recuento de unidades formadoras de colonia de microorganismos por dilución de cada una de los grupos funcionales celulolíticos, solubilizadores de fosforo y fijadores de nitrógeno.

A continuación se realizará la identificación morfológica de hongos filamentosos por tinción con azul de lactofenol y para bacterias y levaduras con la tinción de gram, mediante técnicas fenotípicas: se emplearán métodos rápidos, como el sistema API®, los cuales son dispositivos de plástico con varios microtubos que contienen diferentes medios de cultivo deshidratados o diferentes sustratos de enzimas que permite la identificación de bacterias, hongos y levaduras a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas.

Análisis estadísticos

Las variables medidas entre parcelas y entre tratamientos se evaluarán mediante un análisis de varianza no paramétrico o de distribución libre, que permitirá determinar por correlación las variables climatológicas, físicas, químicas y microbiológicas en el comportamiento de los suelos del piedemonte llanero ante un evento de contaminación por hidrocarburos derivados del petróleo.

Así mismo, para verificar la significancia estadística entre las medias de las variables a analizar se realizará un test de comparación múltiple de Duncan.

Cronograma de actividades

Actividad	mes 1	mes 2	mes 3	mes 4	mes 5	mes 6	mes 7
Adecuación parcelas de escurrentía " <i>in situ</i> "							
Aplicación gasolina y diésel							
Muestreo							
Procesamiento en laboratorio para determinación parámetros físicos, químicos y microbiológicos y registró datos climatológicos.							
Recopilación de Información primaria y secundaria							
Análisis de resultados							
Elaboración de productos según el modelo de COLCIENCIAS							

Elaboración del documento final							
---------------------------------	--	--	--	--	--	--	--

Presupuesto

Ítem	Subtotal	Rubros
Materiales		\$600.000,00
Papelería	\$600.000,00	
Servicios técnicos		\$ 1.500.000,00
Análisis químicos del suelo	\$1.500.000,00	
Trabajo de campo		\$2.600.000,00
Construcción de parcelas	\$2.000.000,00	
Mano de obra	\$200.000,00	
Transporte	\$400.000,00	
Equipos de investigación experimental		\$2.500.000,00
Reactivos	\$1.450.000,00	
Materiales	\$1.050.000,00	
Participación en eventos Nacionales		\$1,800.000,00
Inscripción a evento Nacional	\$1.200.000,00	
Viaje a evento (1 persona)	\$600.000,00	
Participación evento de carácter internacional		\$4,000.000,00
Inscripción Congreso Internacional	\$3.100.000,00	
Viaje a evento (1 persona)	\$900.000,00	
Publicación de artículos		\$2.000.000,00
Pago derecho para publicación en revista indexada (1 artículo)	\$1.000.000,00	
Pago traducción artículo (1 artículo)	\$1.000.000,00	

TOTAL	\$15'000.000,00
--------------	------------------------

Producción programada e impacto esperado

A continuación, se presenta, las metas a obtener en los cuatro tipos de productos, según el modelo de COLCIENCIAS, estas son:

- ***Productos de nuevo conocimiento***

Se realizarán dos artículos, uno bajo la responsabilidad de María Alexandra Méndez Leal, Investigador principal, y el otro será realizado por César Augusto Rivero, Coinvestigador.

- ***Productos de Actividades de Desarrollo Tecnológico e innovación***

Aportará información del comportamiento de los suelos del piedemonte llanero ante eventos de contaminación por derivados de hidrocarburos, como insumo básico en la determinación de la toma de decisiones para futuras labores de remediación.

- ***Productos de apropiación social del conocimiento***

Se participará con ponencia en un congreso colombiano y en un Congreso de carácter Internacional.

- ***Producto de formación de recurso humano***

El estudiante José David Salinas Vera y Natalia Andrea Vivas, realizará labores de auxiliar, y documentará su trabajo de grado, para optar al título de pregrado en Ingeniería Ambiental.

El impacto esperado, será:

- Contribuir con el aporte de información básica de libre circulación y uso, acerca del comportamiento del suelo del piedemonte Llanero, ante eventos de contaminación por derrames de derivados de hidrocarburos, para ser validada por la administración pública, las instituciones educativas regionales y nacionales, la empresa privada, autoridades competentes y a la Corporación Autónoma Regional – CORMACARENA- con jurisdicción en el departamento del Meta.
- Suscitar en el estudiante de Ingeniería Ambiental, la curiosidad investigativa, que genere como resultado impacto social y ambiental, a través de su participación en Semilleros de Investigación, para potenciar y desarrollar el pensamiento crítico enfocado a mejorar el entorno, con propuestas que sean aplicables a las condiciones del departamento del Meta.

Revisión bibliográfica

Adams, R. H., Zavala-Cruz, J., & Morales-García, F. (2008). *Concentración residual de hidrocarburos en suelo del trópico. II: Afectación a la fertilidad y su recuperación*. Interciencia, 33(7), 483-489. Retrieved from <http://search.proquest.com/docview/210165437?accountid=13250>

Acuerdo No. 287 de 29 de diciembre de 2015. (2015). Nuevo plan de Ordenamiento Territorial del Municipio de Villavicencio y se dictan otras disposiciones". Concejo Municipal de Villavicencio.

ANH "Autoridad Nacional de Hidrocarburos". (s.f.). ANH "Autoridad Nacional de Hidrocarburos". Recuperado el 13 de Agosto de 2016, de ANH "Autoridad Nacional de Hidrocarburos": <http://www.anh.gov.co/Operaciones-Regalias-y-Participaciones/Sistema-Integrado-de-Operaciones/Paginas/Estadisticas-de-Produccion.aspx>

American Society for Testing Materials - ASTM. (1995). Standards on environmental sampling. Library of Congress Catalog. U.S.A.

Amin, O., & Comoglio, L. (2006). Toxicidad del petróleo diesel en el primer estadio larval de la centolla ("Lithodessantolla") y del centollón ("Paralomis granulosa"). Santiago de Chile, CL: Red Revista de Biología Marina y Oceanografía. Retrieved from <http://www.ebrary.com>

Arrieta, O., Rivera, A., Arias, L., Rojano, B., Ruiz, O. & Cardona, S. (2012). Biorremediación de un suelo con diesel. Revista Gestión y Ambiente. 15(1). Pp. 27-40.

Avellaneda, L & Torres, E. (2013). Biodiversidad de grupos funcionales de microorganismos asociados a suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo en el Parque Nacional Natural de Los Nevados, Colombia. Biota Colombiana. 16(1).

Banco de la República de Colombia. (2016). Boletín económico regional. III trimestre de 2016. Suroriente. Meta/ Casanare/ Amazonas/ Guauabía/ Guaviare/ Vaupés/ Vichada. Colombia. Consultado el 22 de abril. http://www.banrep.gov.co/sites/default/files/publicaciones/archivos/ber_suroriente_tri3_2016.pdf

Banco de la República (2016). Informe económico Nacional I trimestre de 2016. Santafé de Bogotá

Base Antártica Juan Carlos I –BAE- (2007). Plan de Contingencia sobre derrames de Combustible. Unidad de Tecnología Marina. CSIC. España.

Benavides, J., Quintero, G., Guevara, A., Jaimes, D., Gutiérrez, S. & Miranda, J. (2006). *Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo*. Nova-Publicación científica 4(5), 1–116.

Bartha, R. (1986). *Biotechnology of petroleum pollutant biodegradation*. Microbial Ecology, 12, pp. 155-172.

Cavazos, J., Pérez, B., & Mauricio, A. (2014). *Afectaciones y consecuencias de los derrames de hidrocarburos en suelos agrícolas de Acatzingo, Puebla, México*. Agricultura, Sociedad y Desarrollo, 11(4), 539-550.

Castellanos González, L., Prado, R. M., Reyes Hernández, A., Asis, L., Caione, G., Rosato Moda, L., & Júnior de Almeida, H. (2013). Efecto de la torta del filtro enriquecida con fosfato natural y microorganismos en el suelo y planta en un suelo oxisol. Revista Centro Agrícola, 40(2), 31-37.

Coria, I. (2007). *Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos*. Amazon Web Services.

Correa, H. D., Ruiz, S. L., & Arévalo, L. M. (2006). *Plan de acción en biodiversidad de la cuenca del Orinoco – Colombia / 2005 - 2015 – Propuesta Técnica*. Bogotá D.C.: Corporinoquia; Cormacarena; IAvH, Unitrópico; Fundación Omacha; Fundación Horiz.

DANE. (2013). Proyecciones de población 2005-2020 y estudios demográficos PPED. Colombia. Recuperado de: <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/demografia-y-poblacion/proyecciones-de-poblacion>

Dávila, A., Salazar, G. & González-Chavarría, A. (2016). El conflicto en contexto. Un análisis en cinco regiones colombianas, 1998 -2014. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias Políticas y Relaciones Internacionales. Departamento de Ciencia Política. Bogotá.

El tiempo. (2012). Motores diésel provocan cáncer, dice Organización Mundial de la Salud. 12 de junio de 2012. Recuperado de: <http://www.eltiempo.com/archivo/documento/CMS-11937768>

Ekundayo, E. & Obuekwe, O. (2000). Effects of an oil spill physico-chemical properties of a spill site in a typical delta of the Niger Delta Basin of Nigeria. Environmental Monitoring and Assessment. 60: 235-249.

García, C. A., Rodríguez, O. C., Hernández, F. E., Afanador, L. E., Rodríguez, L., Casallas, P. A., & Cruz, G. (2010). Optimización del transporte por oleoducto de crudo pesado castilla. (Spanish). Revista Fuentes, El Reventón Energético, 8(1), 17.

Gobernación del Meta; IGAC. (2004). El Meta: Un Departamento de Oportunidades. Bogotá D.C., Colombia: Gobernación del Meta; Instituto Geográfico Agustín Codazzi -IGAC-.

Gobernación del Meta. (2015). Nuestro departamento, revisado el 13 de mayo en <http://www.meta.gov.co/web/content/nuestro-departamento>.

Gobernación del Meta. (2016). Plan de desarrollo para el periodo de 2016 al 2019. Recuperado de: <http://www.meta.gov.co/web/content/plan-de-desarrollo>

Gobernación del Meta. (2017). Tierra de oportunidades, revisado el 11 de mayo en <http://www.meta.gov.co/web/content/nuestro-departamento>.

Hernández, P. R. B. (2007). Refinación del petróleo. Buenos Aires, AR: El Cid Editor - Ingeniería. Retrieved from <http://www.ebrary.com>

IDEAM, U.D.C.A., 2015. Protocolo para la identificación y evaluación de la degradación de suelos por erosión. IDEAM - MADS -U.D.C.A Bogotá D.C., Colombia., 170 págs. Versión 2.

IGAC –Instituto Geográfico Agustín Codazzi-. (2016). Meta: Un territorio más para conservar que para producir. Recuperado: <http://noticias.igac.gov.co/meta-territorio-mas-conservar-producir/>

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación –ICONTEC-. (2007). Norma técnica Colombiana NTC4113-2. Gestión Ambiental. Calidad de suelo. Muestreo. Guía sobre Técnicas de muestreo. Colombia.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación –ICONTEC-. (2007). Norma técnica Colombiana NTC4113-4. Calidad de suelo. Muestreo. Parte 4. Guía sobre el procedimiento para la investigación de sitios naturales, semi-naturales y cultivados. Colombia.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación –ICONTEC-. (2007). Norma técnica Colombiana NTC4113-6. Gestión Ambiental. Calidad del Suelo. Muestreo. Guía para la Recolección, Manejo y Almacenamiento de Suelo para la Evaluación de Procesos Microbianos Aeróbicos en el Laboratorio. Colombia.

Instituto Nacional de Medicina legal. (2016). Comportamiento de muertes y lesiones por accidentes de transporte. Colombia. Recuperado de: <http://www.medicinalegal.gov.co/observatorio>

Iwamoto, T. & Nasu, M. (2001). Review. Current Bioremediation Practice and Perspective. Journal of Bioscience and Bioengineering. 92(1), 1-8.
Levine, B., White, J & DeLaune, R, (2017). Impacts of the long-term presence of buried crude oil on salt marsh soil denitrification in Barataria Bay, Louisiana. Ecologia Engineering. 99: 454-461.

Kuyukina, M., Ivshina, I., Ritchkova, M., Philp, J., Cunningham, C., & Christofi, N. (2003). Bioremediation of crude oil-contaminated soil using slurry-phase biological treatment and land farming techniques. *Soil & Sediment Contamination*, 12(1), 85-99.

Maduell, P., Armengol, G., Llagostera, M., Lindow, S., & Orduz, S. (2007). Immigration of *Bacillus thuringiensis* to bean leaves from soil inoculum or distal plant parts. *Journal Of Applied Microbiology*, 103(6), 2593-2600.

Mastandrea, C., Chichizola, C., Ludueña, B., Sánchez, H., Álvarez, H., & Gutiérrez, A. (2005). *Hidrocarburos aromáticos policíclicos*. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 39, 27–36.

MinMinas. (2007). Mejoramiento de la calidad de los combustibles en el país. República de Colombia. Recuperado en: <https://www.minminas.gov.co/documents/10180/486365/CALIDAD+DE+COMBUSTIBLES.pdf/1d7c32b6-e4ec-48a4-be15-b0d7c3bfc594>

MinMinas. (2012). *ABC MINERO. Documento de apoyo para el proceso de consulta previa del "proyecto de ley por medio del cual se reforma el código de minas y se dictan otras disposiciones"*. Obtenido de Ministerio de Minas y Energía.

MinMinas. (2013). Hidrocarburos. Memorias al congreso de la República. 2012-2013. Recuperado en: <https://www.minminas.gov.co/documents/10180/614096/2-Hidrocarburos.pdf/75855d82-def9-4ccb-9fe4-2d4ee97f9123>

MinMinas. (2015). Listado de Estaciones de servicio Automotriz Certificadas Septiembre 21 de 2015. Dirección de Hidrocarburos. Colombia

Murillo, L.G. (2016). Es hora de que Colombia haga sostenible su hábitat. *Revista Semana Sostenible*. Sección Opinión. Recuperado de: <http://sostenibilidad.semana.com/opinion/articulo/luis-gilberto-murillo-el-medioambiente-es-otra-victima-del-conflicto/36364>

Mohamadi, B., Liu, F., & Xie Z. (2016). Oil spill influence on vegetation in Nigeria and its determinants. *Polish Journal of Environmental Studies*. 25(6): 2533-2540.

Morales, C. (1996). *Manual: Evaluaciones en la Parcela de Escorrentía y Erosión*. Lima.

Moreno, V. (2006). *Derrames de Hidrocarburos*. Parques Nacionales Naturales. Recuperado de: <http://www.parquesnacionales.gov.co/PNN/portel/libreria/pdf/derramesdehidro.pdf>

Navas, M., Benito, M., & Masaguer, A. (2009). Evaluación de parámetros bioquímicos en un Calcaric Skeletic Cambisol bajo diferentes usos de suelo. *Revista Científica Agronomía Tropical* Vol. 59(2). Caracas, VE: Red Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de Venezuela. Retrieved from <http://www.ebrary.com>

OMS. (2016). La Salud en la economía verde. Sector del Transporte. Recuperado de: http://www.who.int/hia/hgebrief_tra_sp.pdf?ua=1

Ortiz, S., Cram, S., & Sommer, I. (2012). Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado de Tabasco, México. Recuperado a partir de <http://scielo.unam.mx/pdf/uc/v28n2/v28n2a3.pdf>

Ortuño, A. S. (2009). El mundo del petróleo: origen, usos y escenarios. México, D.F., MX: FCE - Fondo de Cultura Económica. Retrieved from <http://www.ebrary.com>

Páez, L. M. E., & Bautista, L. J. E. (2012). Química: su impacto en la salud y el ambiente. Bogotá, CO: Ecoe Ediciones. Retrieved from <http://www.ebrary.com>

Petenello, M., & Feldman, S. R. (2012). *Evaluación de la tolerancia a suelos contaminados con aceite diésel en especies vegetales con potencial biorremediador*. *Acta Biológica Colombiana*, 17(3), 589-598. Retrieved from <http://search.proquest.com/docview/1677387080?accountid=13250>

Rincón, A. (2004). Implementación de sistemas agropastoriles para mejorar la productividad de la Orinoquia colombiana. Villavicencio: Corpoica.

Rincón, A., Bueno, G., Álvarez, M., Pardo, Ó., Pérez, O., & Caicedo, S. (2010). Establecimiento, manejo y *utilización de recursos forrajeros en sistemas ganaderos de suelos ácidos*. Villavicencio, Meta, Colombia: CORPOICA.

Rhykerd R.L., Crews B., McInnes K.J., and Weaver R.W. (1998). *Impact of bulking agents, forced aeration, and tillage on remediation of oil-contaminated soil*. *Bioresource Technology*, 67, pp. 279-285.

Rippstein, G., Escobar, G., & Motta, F. (2001). Agroecología y biodiversidad de las sabanas en los Llanos Orientales de Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical –CIAT-. Cali.

SEMARNAT. Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1. (2012). *Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación*. Recuperado del sitio de internet http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5313544&fecha=10/09/2013

Simpanen, S., Dahl, M., Gerlach, M., Mikkonen, A., Malk, V., Mikola, J. and Romantschuk, M. (2016). Biostimulation proved to be the most efficient method in the comparison of in situ soil remediation treatments after a simulated oil spill accident. *Environmental Science Pollution Research*. 23 (24): 25024-25038.

SITUR –Sistema de Información Turístico del Meta-. (2017). Vive esta semana santa en el Meta “Déjate Sorprender”. Boletín Informativo. Meta.

Speight, J. G. A. K. K. (2012). *Bioremediation of Petroleum and Petroleum Products*. Somerset: Wiley. Retrieved from <https://ebookcentral-proquest-com.ezproxy.javeriana.edu.co/lib/bibliojaveriana-ebooks/detail.action?docID=1047616>

Torres, K. (2014). Análisis de los impactos ambientales generados por el tratamiento y disposición final de los residuos aceitosos (borras) generados en los distritos de producción de hidrocarburos. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. <http://www.bdigital.unal.edu.co/46570/1/905078.2014.pdf>

Torres, D., N. Rodríguez, H. Yendis, A. Florentino y F. Zamora. 2006. *Cambios en algunas propiedades químicas del suelo según el uso de la tierra en el sector El Cebollal, estado Falcón, Venezuela*. *Bioagro* 18(2): 123-128.

Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Minas (2009). Evaluar la calidad de los combustibles usados (gasolina extra, corriente, diésel, mezclas de combustibles líquidos y sólidos) en el área metropolitana del Valle de Aburra. Informe Final del acta ejecutoria No. 1. Convenio Marco 392 de 2009. Medellín.

Universidad Nacional de Colombia (2013). Plan de movilidad de la ciudad de Villavicencio. Alcaldía de Villavicencio. Decreto 1000-21/019 del 2015. Recuperado de https://villavicencio.wikispaces.com/file/view/PlanMovilidad31-03-2010_17-48-34.pdf

Vera, G. Tam, J. y Pinto, E. (2009). Efectos ecotoxicológicos del petróleo crudo, diesel 2 y Kerosene sobre el crecimiento poblacional de la microalga *Chaetoceros gracilis* Schutt. *Ecología Aplicada*, 8, 1-7.

Wauquier, J. P. (2004). *El refino del petróleo: petróleo crudo, productos petrolíferos, esquemas de fabricación*. Madrid, ES: Ediciones Díaz de Santos. Retrieved from <http://www.ebrary.com>

Zamora, A., Ramos, J., & Arias, M. (2012). *Efecto de la contaminación por hidrocarburos sobre algunas propiedades químicas y microbiológicas de un suelo de sabana*. Caracas Venezuela: Scielo.org.ve

