

**EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS EN *Heliconia psittacorum*
(HELICONIACEAE) EXPUESTA A UNA CARGA ORGÁNICA DE AGUA
RESIDUAL EN UN HUMEDAL ARTIFICIAL SUBSUPERFICIAL PARA EL
TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS EN EL MUNICIPIO
DE GINEBRA (VALLE DEL CAUCA)**

STEPHANYE ZARAMA ALVARADO

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Bióloga.

Director

ENRIQUE PEÑA SALAMANCA

Biólogo, Ph. D

UNIVERSIDAD DEL VALLE

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

PROGRAMA ACADEMICO DE BIOLOGÍA

SANTIAGO DE CALI

2009

UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
PROGRAMA ACADÉMICO DE BIOLOGÍA

AUTOR: STEPHANYE ZARAMA ALVARADO

TÍTULO: EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS EN *Heliconia psittacorum* (HELICONIACEAE) EXPUESTA A UNA CARGA ORGÁNICA DE AGUA RESIDUAL EN UN HUMEDAL ARTIFICIAL SUBSUPERFICIAL PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DOMÉSTICAS EN EL MUNICIPIO DE GINEBRA (VALLE DEL CAUCA)

TEMAS: Aguas residuales, Biorremediación, Fitorremediación, Ecofisiología Vegetal, Humedales Artificiales, Potencial Hídrico, Fluorescencia.

SANTIAGO DE CALI

2009

Nota de Aprobación

El trabajo de grado titulado: “Evaluación de parámetros fisiológicos en *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae) expuesta a una carga orgánica de agua residual en un humedal artificial subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales domésticas en el Municipio de Ginebra (Valle del Cauca)”, presentado por la estudiante STEPHANYE ZARAMA ALVARADO, para optar al título de Bióloga, fue revisado por el jurado y calificado como:

Aprobado

Enrique Peña
Director

Jurado

DEDICATORIA

A los que hicieron posible un mejor vivir para mi existencia...

*Comprender el mundo caótico en el que vivimos,
es una jornada incandescente todos los días del existir.*

*El estado grita, sacar productos es lo único que se desea.
Yo grito desde mi caótico existir,
sacar humanos es lo que se desea.*

*Hoy a puertas de obtener un título de pregrado,
el estado obtiene un producto para laborar,
y hacer que una más de sus rompecabezas,
se ajuste a la gran maquinaria creada.*

*Pero yo,
dejando de ser un simple número,
obtengo un suspiro,
un aliento,
una descarga,
una sonrisa,
y la mirada al espejo que le dice:
adiós a una Stephanye que ya deja de ser,
y pasa a redescubrirse,
en nuevas aventuras,
que permitirán disfrutar,
de un profundo silencio de sosiego y de calma,
en esta vida taciturna.*

AGRADECIMIENTOS

No sé cómo empezar hacer este numeral de “Agradecimientos”, pues el mismo término se queda corto para expresarle a todas las personas que me acompañaron en estos años de desgaste de las células y florecer de otras en mi cuerpo.

Pero ante todo, el agradecimiento que brota de lo más profundo del corazón, es a mis padres, Roberto y Nidia, que sin más me dejan anonadada, admirada de tan bellas personas que me enseñaron el secreto más hermoso de la vida: el arte de saber vivir. A mis hermanos, Zhamed y Nico que son gotas de inspiración, de admiración y de vida. Y a todos los que tienen un nombre grabado en mí, como una huella encontrada por un paleontólogo que busca reconstruir la historia de la vida. Y por supuesto, como olvidar a todas las instituciones que contribuyeron con el desarrollo de este trabajo, al Grupo de Investigación en Biología Vegetal y aplicada del Departamento de Biología de la Universidad del Valle, por permitirme ser parte del proyecto “Modelación de los mecanismos involucrados en la transformación y remoción de nutrientes y materia orgánica en humedales artificiales subsuperficiales para el tratamiento de aguas residuales domesticas”, y al Instituto de Investigación y Desarrollo en Agua Potable (CINARA). A todas las personas que de una u otra forma participaron en todo el proceso de formación profesional, en especial a Enrique Peña. Y a compañeros como Fernando Díaz, Fernando Prieto, y Yamid Pipicano, por sus valiosos aportes.

Y por último, un agradecimiento de Stephanye para ella misma.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
1. RESUMEN.....	12
2. INTRODUCCIÓN.....	13
3. MARCO TEÓRICO.....	17
3.1 Aguas Residuales.....	17
3.2 Biorremediación.....	19
3.2.1 Fitorremediación.....	20
3.3 Sistemas de Humedales para Tratamiento de Aguas Residuales.....	22
3.3.1 Humedales Artificiales.....	25
3.3.1.1 Clasificación de Humedales Artificiales.....	27
3.3.1.1.1 Sistema de Flujo Superficial Libre (SFSL).....	28
3.3.1.1.2 Sistema de Flujo Subsuperficial (SFSS).....	29
3.3.2 Carga Orgánica en Sistemas de Humedales	31
3.4 Ecofisiología Vegetal.....	33
3.4.1 El papel que juegan las plantas en Humedales Artificiales.....	34
3.4.1.1 Las plantas implicadas en Sistemas Hidráulicos.....	38
3.4.1.2 Remoción de Nutrientes.....	40
3.4.1.2.1 Remoción de Nitrógeno.....	42
3.4.1.3 Parámetros Fisiológicos.....	44
3.4.1.3.1 Potencial Hídrico.....	44
3.4.1.3.1.1 Componentes.....	46

3.4.1.3.2 Fluorescencia.....	49
3.4.1.3.2.1 El Efecto Kautsky.....	52
3.4.1.3.3 Nitrógeno Foliar	54
3.5 Antecedentes.....	55
4. OBJETIVOS.....	62
4.1 Objetivo General.....	62
4.2 Objetivos Específicos.....	62
4.3 Hipótesis.....	63
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	64
5.1 Zona de Estudio	64
5.1.1 Región de Estudio	64
5.1.2 Sitio de Muestreo	65
5.1.3 Diseño y descripción del humedal Artificial de la PTARD.....	68
5.2 Sinopsis Biológica de la Especie <i>Heliconia psittacorum</i>	70
5.2.1 Descripción General de las Heliconias.....	70
5.2.2 Descripción de <i>Heliconia psittacorum</i>	73
5.2.3 Utilización de la Unidad Experimental.....	75
5.3 Condiciones Experimentales	75
5.4 Mediciones de Parámetros Fisiológicos.....	76
5.4.1 Fluorescencia.....	77
5.4.2 Potencial hídrico.....	78
5.4.3 Nitrógeno Foliar	80

5.5 Análisis estadístico.....	82
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	84
6.1 Comportamiento del Potencial Hídrico.....	84
6.2 Comportamiento de la Fluorescencia.....	94
6.3 Análisis descriptivo del comportamiento del Nitrógeno Foliar.....	103
7. CONCLUSIONES.....	109
8. GLOSARIO.....	110
9. LITERATURA CITADA	111

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Mecanismos de Fitorremediación.....	21
FIGURA 2: Humedal y plantas acuáticas	23
FIGURA 3: Sistema de Flujo Superficial Libre (SFSL).....	29
FIGURA 4: Sistema de Flujo de Bajo Superficie (SFBS).....	31
FIGURA 5: Interacción entre la zona raíz en un Humedal Artificial.....	35
FIGURA 6: Efecto Kautsky.....	54
FIGURA 7: Ubicación del Municipio de Ginebra.....	64
FIGURA 8: Estación de Investigación y Transferencias de Tecnología en Aguas Residuales y Reuso de Ginebra.....	66
FIGURA 9: Esquema de la Planta Piloto de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales ACUAVALLE.....	67
FIGURA 10: Vista de los Humedales Subsuperficiales	68
FIGURA 11: Representación Esquemática del Humedal Artificial Subsuperficial de <i>Heliconia psittacorum</i>	69
FIGURA 12: Humedal Subsuperficial en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales ACUAVALLE.....	70
FIGURA 13: Planta <i>Heliconia psittacorum</i>	73
FIGURA 14: Flor de <i>Heliconia psittacorum</i>	74
FIGURA 15: Procedimiento para el registro de datos a Escala de Campo en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales ACUAVALLE.....	76
FIGURA 16: Fluorómetro Marca Walz Modelo MINIPALM-2002.....	78
FIGURA 17: Microvoltímetro portátil Marca Psypro Wescor Modelo 120W.....	79
FIGURA 18: Método Kjeldhal a Escala de Laboratorio	81

FIGURA 19: Potencial hídrico de <i>Heliconia psittacorum</i> durante las fechas de muestreo.....	85
FIGURA 20: Comportamiento del Potencial hídrico de <i>Heliconia psittacorum</i> en cada fecha de muestreo a través de las zonas del humedal.....	86
FIGURA 21: Potencial hídrico de <i>Heliconia psittacorum</i> en las tres zonas del humedal.....	87
FIGURA 22: Comportamiento del Potencial hídrico de <i>Heliconia psittacorum</i> en cada zona del humedal a través de las fechas de muestreo.....	88
FIGURA 23: Fluorescencia de <i>Heliconia psittacorum</i> durante las fechas de muestreo.....	95
FIGURA 24: Comportamiento de la Fluorescencia de <i>Heliconia psittacorum</i> en cada zona del humedal a través de las fechas de muestreo.....	96
FIGURA 25: Fluorescencia de <i>Heliconia psittacorum</i> en las tres zonas del humedal.....	97
FIGURA 26: Comportamiento de la Fluorescencia de <i>Heliconia psittacorum</i> en cada fecha de muestreo a través de las zonas del humedal.....	98
FIGURA 27: Nitrógeno Foliar de <i>Heliconia psittacorum</i> durante las fechas de muestreo.....	105
FIGURA 28: Nitrógeno Foliar de <i>Heliconia psittacorum</i> en las zonas del humedal.....	106

LISTA DE TABLAS

	Página
TABLA 1: Principales constituyentes de interés en el Tratamiento de Aguas Residuales.....	18
TABLA 2: Las especies emergentes más utilizadas en la Depuración de Aguas Residuales.....	37
TABLA 3: Componentes de la carga orgánica aplicada al humedal Subsuperficial.....	69
TABLA 4: Niveles nutricionales a nivel foliar de <i>Heliconia</i> sp	72
TABLA 5: Estadística descriptiva del Potencial Hídrico.....	84
TABLA 6: Análisis de varianzas (Anova) del Potencial Hídrico.....	89
TABLA 7: Diferencias del comportamiento del Potencial Hídrico de <i>Heliconia psittacorum</i> entre las seis Fechas de muestreo	90
TABLA 8: Diferencias del comportamiento del Potencial Hídrico de <i>Heliconia psittacorum</i> entre las zonas del humedal subsuperficial	92
TABLA 9: Estadística descriptiva de la Fluorescencia.....	95
TABLA 10: Análisis de varianzas (Anova) de la Fluorescencia.....	99
TABLA 11: Diferencias del comportamiento de la Fluorescencia de <i>Heliconia psittacorum</i> entre las seis Fechas de muestreo	100
TABLA 12: Diferencias del comportamiento de la Fluorescencia de <i>Heliconia psittacorum</i> entre las zonas del humedal subsuperficial	102
TABLA 13: Estadística descriptiva del Nitrógeno Foliar	104

1. RESUMEN

El estudio fisiológico de nuevas especies vegetales nativas, y sus usos para procesos de fitorremediación, empleados en los sistemas de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales, son fundamentales para una mejor garantía de la calidad del recurso hídrico. Esta investigación tuvo como finalidad evaluar los parámetros fisiológicos de *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae), expuesta a una carga orgánica de agua residual doméstica de 3.456 m³/d en un humedal subsuperficial en el Municipio de Ginebra (Valle del cauca). Se realizó a escala piloto en la “Estación Experimental de Tratamiento de Aguas Residuales (Acuavalle)”, con el diseño de un humedal subsuperficial de 3 x 9 metros, dividiéndolo en tres zonas, una de entrada, otra media y de salida. En él se sembró la especie *Heliconia psittacorum* con una densidad de 6 plantas por metros cuadrados y se dio un lapso de dos semanas de aclimatación después de su exposición a la carga orgánica. Se determinó las variables fisiológicas: del Potencial hídrico y Fluorescencia, en dos hojas de las seis plantas escogidas aleatoriamente en cada zona, y Nitrógeno foliar con la aplicación del Método Kjeldhal en el laboratorio en las tres hojas escogidas por zona, entre los meses de Agosto a Noviembre del 2007. Se aplicó Anova Paramétrica, y éste mostró que el comportamiento del Potencial hídrico y de la Fluorescencia presenta diferencias entre Zonas y Fechas de muestreo con un $p < 0,05$. Al concluir la investigación se encontró que la especie *Heliconia psittacorum*, es novedosa en la fitorremediación por ser tolerante ante este tipo de condiciones ambientales, ya que responde positivamente a nivel fisiológico.

2. INTRODUCCIÓN

Los avances en la ciencia y en la tecnología han posibilitado la explotación de los recursos naturales a gran escala, lo que genera disturbios sin precedentes a nivel global en los ciclos elementales de la vida (McCutcheon et al. 2002). Estos son ocasionados por un problema de contaminación de suelos, aire, y agua (Benavides et al. 2006), lo que conlleva a que actualmente se realicen esfuerzos en muchos países para el control de contaminantes (Schnoor et al. 1995), tomándose medidas pertinentes con la creación de leyes que protegen el medio ambiente y el estudio de mecanismos que ayuden a reducirlos.

Entre los mayores desafíos, se encuentra la necesidad de asegurar servicios para el control, tratamiento y aprovechamiento de los residuos sólidos, líquidos y gaseosos de las comunidades rurales y urbanas (Cruz et al. 2006). Las soluciones planteadas para esto requieren emprender ideas apropiadas e innovadoras para proteger la salud pública, recuperar los recursos nutrimentales y proteger de la contaminación, las fuentes de agua, suelo y aire (Rose 1999). Una de ellas -y en la cual se enmarca esta investigación-, es la “Biorremediación” que es una técnica novedosa, ya que utiliza organismos como plantas, hongos, bacterias naturales o modificadas genéticamente, para neutralizar sustancias tóxicas, transformándolas en sustancias menos tóxicas o convirtiéndolas en inocuas para el ambiente y la salud humana según Benavides et al. (2006).

Se tuvo interés específicamente en la “Fitoremediación”, que es una alternativa que ofrece un costo efectivo y seguro a diferencia de las técnicas convencionales de limpieza, por la utilización de la capacidad de ciertas plantas en remover,

degradar o inmovilizar dañinos químicos que reducen el riesgo de contaminación de sólidos, lodos, y sedimentos a través de remoción de contaminantes, degradación o contención (Zavoda et al. 2001).

La contaminación del agua potable es relevante en esta investigación, ya que con el crecimiento de la población mundial, la demanda de agua es muy alta, por ser un elemento esencial para el consumo humano. Pero gracias a la contaminación de las fuentes de agua, con agentes extraños como microorganismos, productos químicos, residuos industriales y de otros tipos, y aguas residuales, existen cifras alarmantes, en las que se estima que el 80% de las enfermedades y más de un tercio de los fallecimientos en los países en desarrollo, se deben al consumo de agua contaminada y que en promedio hasta la décima parte del tiempo productivo de cada persona se pierde a causa de enfermedades relacionadas con ésta, según Rose (1999). Una alternativa como solución a dicho problema, es el tratamiento de aguas residuales domesticas e industriales, para evitar la contaminación de los cuerpos de agua (ríos, lagos, campos, etc.), a los cuales se vierten estas aguas residuales, que casi siempre son descargadas sin ser tratadas (Trinidad 2006).

Para alcanzar este propósito, diseñar y construir Humedales con el aprovechamiento de algunas plantas en la remoción de nutrientes en tratamiento de aguas residuales domésticas, es una buena alternativa, ya que los previos estudios indican que el uso de humedales artificiales es reconocido y aceptado como una tecnología de bajo costo, que promueve la recuperación y re-uso de fuentes de agua, en beneficio de pequeñas comunidades que no pueden disponer

de sistemas de tratamiento convencionales según (Billore et al. 1999 y White 1995). Estos sistemas se clasifican según las características de la especie macrófita que predomina como el tipo de flujo. Este último se clasifica según Cruz et al. (2006), en: 1) “Sistemas de flujo superficial o terrestres”, en el que la lámina de agua se halla en superficie en contacto con la atmósfera; 2) “Sistemas de flujo subsuperficial” -que es el utilizado en esta investigación-, en el que la lámina de agua se encuentra en profundidad, y permite propiciar la eficiente eliminación de exceso de nutrientes y de agentes contaminadores por filtración física, precipitación y absorción química, y procesos metabólicos biológicos que dan lugar a entierro, a almacenaje en la vegetación, y a la desnitrificación (Bean et al. 2004).

Las plantas del humedal son una parte integrante de estos sistemas (Brix 1987, Reed et al. 1988, WPCF 1990), pues tiene dos importantes funciones en estos procesos: uno, que suministra el oxígeno para que ellas mismas lo realicen, ya sea formándolo por fotosíntesis o tomándolo del aire e inyectándolo hasta la zona radicular; y el otro, la transferencia de oxígeno hacia la zona radicular, que es un requisito imprescindible para que la eliminación microbiana de algunos contaminantes se realice con eficacia, estimulando además la degradación de materia orgánica; y estabilizando la conductividad hidráulica de la matriz porosa según Cruz et al. (2006).

Este papel que juegan las plantas y su rizósfera en la transformación de la materia orgánica en un humedal, en el que absorben, fijan y translocan por medio de su capacidad de degradación orgánica y de componentes tóxicos que incorporan en sus necesidades fisiológicas (Wetzel 2000), es importante en el saneamiento de

aguas contaminadas. Lo que despierta en la investigación el interés de brindar una mirada más atenta a través del desarrollo de estudios de estos procesos, que contribuyan al conocimiento de los principales mecanismos de Fitorremediación - siendo un caso la presente investigación-, ya que hay poca información cuantitativa disponible, comparando características de crecimiento, remoción de nutrientes, en especial el Nitrógeno y funcionamiento del tratamiento en estos sistemas artificiales (Tanner 1996), una comprensión confusa de los procesos fisiológicos complejos causados recíprocamente por las plantas, los microorganismos y las sustancias contaminantes (Bederski et al. 2003), y poca exploración del uso de especies de vegetales nativas en estos sistemas de tratamiento.

Este estudio hace parte del proyecto: “Modelación de los mecanismos involucrados en la transformación y remoción de nutrientes y materia orgánica en humedales artificiales subsuperficiales para el tratamiento de aguas residuales domesticas”, del Grupo de Investigación en Biología Vegetal y Aplicada del Departamento de Biología de la Universidad del Valle, y que tuvo por objeto utilizar una especie de planta nativa que ha sido poco estudiada a nivel de la ecofisiología vegetal y biorremediación, llamada *Heliconia psittacorum* de la familia Heliconiaceae, para evaluar la capacidad de asimilación de la Fluorescencia y el Potencial hídrico, y su relación con el promedio general de Nitrógeno foliar de la planta en la remoción orgánica de una carga de agua residual doméstica, en tres diferentes zonas del humedal artificial subsuperficial, creado en la Planta de Tratamientos de Aguas Residuales del Municipio de Ginebra, (Valle del cauca), y se aclara que no se evaluó el impacto del sistema hidráulico en el humedal.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Aguas Residuales

El crecimiento acelerado de la población, especialmente en países en vía de desarrollo, la contaminación de los cuerpos de agua superficial y subterránea, la distribución desigual del recurso hídrico y los graves períodos secos, han forzado a las agencias del agua a buscar innovadoras fuentes de abastecimiento de este recurso (Asano 1991).

Las aguas residuales domésticas son aquellos desechos líquidos provenientes de la actividad doméstica en residencias, edificios e instituciones. Estas son reutilizadas para ser convertidas en una fuente adicional para la demanda del recurso hídrico, ya que se debe suplir el 70% del total del agua requerida por la población que es utilizada para la agricultura y el 30% remanente que es empleado para consumo humano doméstico, comercial e industrial (REUSO DE AGUA RESIDUAL: RED INTERAMERICANA DE RECURSOS HÍDRICOS, <conosur.rirh.net/> consulta: 09 febrero 2009).

En el agua residual interviene los procesos de desarrollo del alcantarillado, el cual es combinado porque conduce tanto el agua lluvia como doméstica, lo que ha ocasionado que en ella, se encuentre la presencia de partículas del suelo, metales pesados, compuestos orgánicos; basura animal entre ellos organismos vivos como mohos, bacterias, algas, virus, protozoarios y metazoarios; y otros fluidos diversos que han sido arrastrados por la lluvia, y que se enumeran en la Tabla 1 -como “los

principales constituyentes de interés en el tratamiento de aguas residuales”-, que al depurarlos, requieren de procesos adecuados para que no se de el deterioro de la calidad del agua (Seoánez 1999).

Tabla 1. Principales constituyentes de interés en el Tratamiento de Aguas Residuales. (Crites & Tchobanoglous 2000).

Constituyentes		Razón de interés
Sólidos suspendidos totales		Formación de depósitos de lodos y condiciones anaerobias.
Compuestos biodegradables	orgánicos	Agotamiento del oxígeno en fuentes naturales y desarrollo de condiciones Sépticas.
Constituyentes inorgánicos disueltos (Sólidos disueltos totales)		Constituyentes inorgánicos adicionados por el uso. Aplicaciones en la reutilización de aguas residuales
Metales pesados		Constituyentes metálicos adicionados por el uso. Muchos metales se clasifican como Polutantes de prioridad.
Nutrientes		Crecimiento excesivo de la vida acuática. Indeseable eutrofización, concentración de Nitratos en agua para consumo humano.
Patógenos		Transmisión de enfermedades.
Polutantes prioritarios	orgánicos	Sospechosos de ser carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos o de toxicidad aguda alta. Muchos polutantes prioritarios son resistentes a los métodos de tratamientos convencionales (Conocidos como contaminantes orgánicos refractarios).

La Organización Mundial de la Salud en 1997, señala que en América Latina y el Caribe sólo el 19% de las aguas residuales colectadas en alcantarillados reciben algún tratamiento antes de ser dispuestas en los cuerpos de agua, como ríos y

mares. Esto significa que alrededor de 567 m³/s de desagües vienen contaminando el medio ambiente y constituyen un vector de transmisión de parásitos, bacterias y virus patógenos (PROYECTO DE INVESTIGACIÓN SISTEMAS INTEGRADOS DE TRATAMIENTO Y USO DE AGUAS RESIDUALES EN AMÉRICA LATINA, <www.cepis.ops-oms.org/bvsaar/e/proyecto/html> Consulta: 10 febrero 2009).

Los problemas de contaminación generados por esta situación, constituyen un reto y a la vez una oportunidad. Un reto porque un porcentaje alto de las aguas residuales son dispuestas sin tratamiento en el ambiente o usadas para fines agrícolas, lo que constituye un problema sanitario de envergadura en muchas localidades, y una oportunidad porque estas aguas representan un recurso valioso desde el punto de vista económico y ecológico, que conlleva a la creación de diferentes tecnologías convencionales y no convencionales que brinda soluciones a estos problemas.

3.2. Biorremediación

El desarrollo de tecnologías sostenibles para el tratamiento de aguas residuales es una necesidad de primer orden en el mundo, pero la mayoría de tratamientos de aguas residuales son convencionales, y estos requieren de inversiones de capital elevadas, costos de operación altos e intensivos respecto al uso de energía y químicos, lo que ha propiciado que en países en vía de desarrollo se busquen

nuevas tecnología no convencionales con beneficios por su módico precio, implementación operacional fácil y conservación del recurso hídrico de una manera natural, como es el caso del uso de Sistemas Naturales de Remedición (Eweis & Sarina 1999), los cuales son una combinación de operaciones físicas, y de procesos biológicos y químicos que remueven el material suspendido, coloidal o disuelto de las aguas residuales.

Los dos tipos de actividad biológica que realizan los organismos en la descomposición de la materia orgánica son: oxidación aeróbica y anaeróbica. A través de reacciones de catabolismo (descomposición) y anabolismo (síntesis), se oxidan o mineralizan los compuestos orgánicos y se produce biomasa; la retención de esta última y la evaporación de los gases producidos permiten efectuar el tratamiento del agua residual (Romero 1994).

3.2.1. Fitorremediación

Los sistemas naturales de remediación vienen a ganar auge en las últimas décadas del siglo XX, con el empleo de diferentes técnicas que dependen del organismo en especial para remediar zonas contaminadas. Una de ellas, es la “Fitorremediación” que es una nueva y prometedora tecnología que utiliza plantas con asociaciones microbianas a la rizosfera que degradan, asimilan, metabolizan o transforman químicos tóxicos localizados en sólidos, sedimentos, lodos, aguas de superficie y en la atmósfera como metales, hidrocarburos, pesticidas, petróleo

crudo, explosivos, rellenos de lixiviados y solventes tratados con cloro y otros (Techdata sheet 1998).

Según McCutcheon et al. (2002), en años recientes, ha cobrado auge la utilización de la fitorremediación en un numero de investigaciones, que ha propiciado ampliar y profundizar los métodos de aplicación in situ, in vivo, e in vitro y los mecanismos en que las plantas absorben esté tipo de sustancias químicas por medio de la raíz, las acumula y transforma en tallos y hojas (Figura 1).

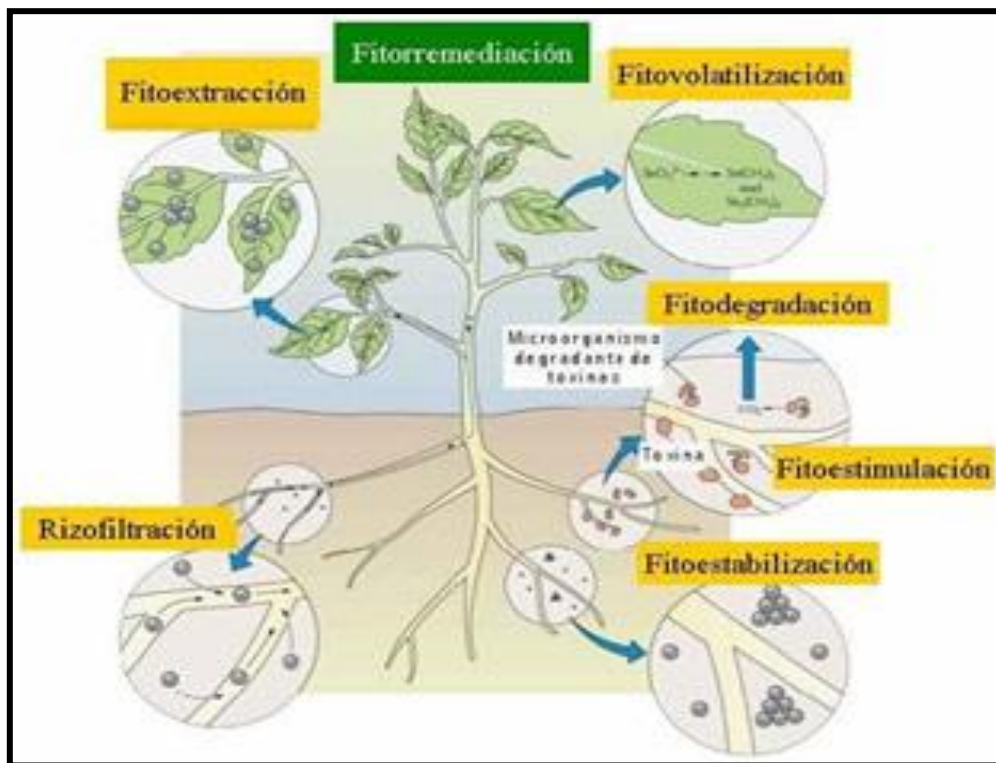


Figura 1. Mecanismo de Fitorremediación. (Fuente: ARGENBIO POR QUÉ BIOTECNOLOGÍA, <www.porquebiotecnologia.com.ar/.../03.jpg> consulta: 12 febrero 2009).

Chang & Corapcioglo (1998) describen como las plantas promueven varios procesos de remediación con un ancho rango de químicos tóxicos de sitios malgastados. Estos procesos incluyen:

1. Modificación de las propiedades químicas y físicas de contaminantes sólidos.
2. Libera raíces exudadas, por lo tanto, incrementa el carbón orgánico.
3. Mejoramiento de la aireación por el oxígeno directo que suelta en la zona de raíz, además de incrementar la porosidad de la zona superior de la tierra.
4. Intercepta y retarda el movimiento químico.
5. Efectúa un co-metabolismo microbial y las plantas transforman enzimáticamente químicos recalcitrantes.
6. Decrecimiento vertical y migración lateral de sustancias contaminantes de tierras de agua por extracción disponible de aguas y revestimiento de gradientes hidráulicos.

3.3. Sistemas de Humedales para Tratamiento de Aguas Residuales

Los humedales son zonas semiterrestres con poca profundidad (menores a 0,60 m) y con un elevado grado de humedad, en el que el agua es el principal factor que controla el medio y la vida vegetal y animal relacionada con él (Lahora 2003), lo que permite que se reúnan ciertas características biológicas, físicas y químicas, que les confieren un elevado potencial autodepurador en la eliminación de exceso de nutrientes y de agentes contaminadores (Figura 2).

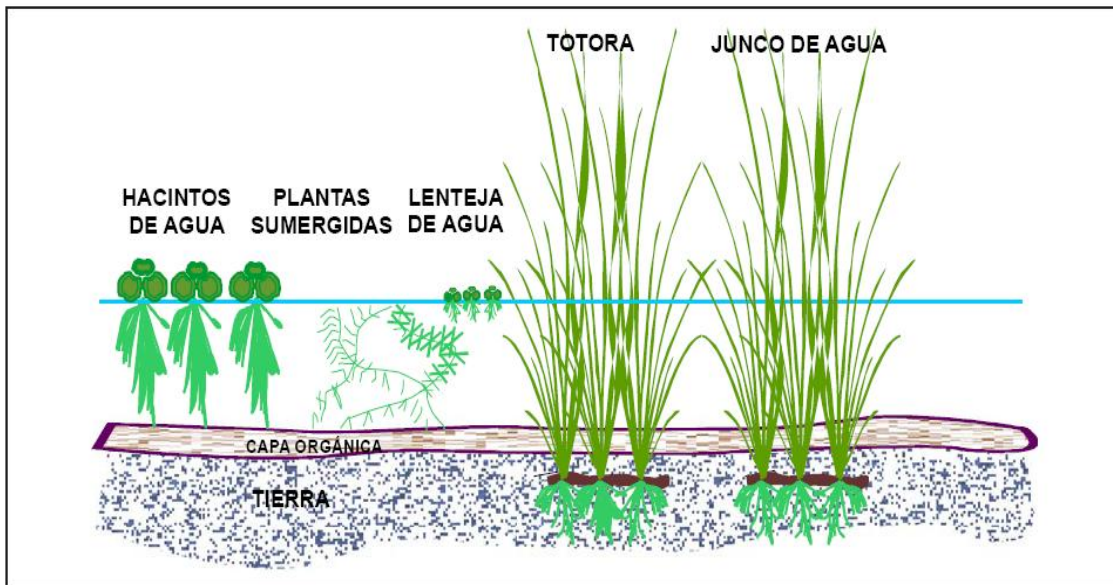


Figura 2. Humedal y plantas acuáticas. (Fuente: Chafloque & Gómez 2006)

En principio, se distinguirá entre humedales naturales y artificiales, debido a que las características, afecciones y forma de gestión son distintas.

Los “humedales naturales” son sistemas de flujo libre superficial con un mosaico de lámina de agua, la cual esta expuesta a la atmósfera, vegetación sumergida, vegetación flotante, vegetación emergente tales como fangales (especialmente con vegetación de musgos), las zonas pantanosas (principalmente de vegetación arbórea) y las praderas inundadas (principalmente con vegetación herbácea y plantas macrófitas emergentes) según Chafloque & Gómez (2006). Pero estos presentan extrema fragilidad, debido a la región biogeográfica, casi siempre con escasas precipitaciones y el aumento de procesos degradativos, mientras que los “humedales artificiales” son masas de agua generadas por el hombre, mediante

infraestructuras o alteraciones del medio, donde también se ha creado zona inundable, que puede tener o no una naturaleza irregular, cambiante y dinámica, y de una gran biodiversidad (embalses, charcas, balsas, etc.), que ha permitido duplicar ecosistemas y tener un grado de control para obtener en eficiencia y eficacia agua de calidad según Bederski et al. (2003).

Las actividades humanas han dado y siguen dando origen a varios tipos de humedales de interés, dependiendo de la finalidad a la que se quiera llegar, pero se pueden definir tres funciones básicas que los hacen tener un atractivo potencial para el tratamiento de aguas residuales, las cuales son: a) Fijar físicamente los contaminantes en la superficie del suelo y la materia orgánica; b) Utilizar y transformar los elementos por medio de los microorganismos; c) y Lograr altos niveles de depuración con un bajo consumo de energía y mantenimiento (Lara 1999).

Según Arango (2007), las principales ventajas de la utilización de sistemas de humedales en tratamiento de aguas residuales, son: 1) Proporcionar un tratamiento efectivo en forma pasiva y minimizar la necesidad de equipos mecánicos, electricidad y monitoreo por parte de operadores calificados; 2) Son menos costosos de construir, de operar y mantener, que los procesos convencionales de tratamiento diseñados para un nivel equivalente de calidad del efluente; 3) Son muy efectivos en la remoción de DBO, DQO, SST, metales y algunos compuestos orgánicos y microorganismos patógenos de las aguas residuales domésticas como la remoción de nitrógeno y fosforo también es

posible; 4) Facilidad de cosecha de biomasa que puede ser retirada mediante cortes periódicos para que el sistema siga bombeando nutrientes, ya que esta biomasa puede ser utilizada en alimentación animal, con fines energéticos y como plantas decorativas.

3.3.1. Humedales Artificiales

En los últimos tiempos, el uso de Humedales Artificiales es reconocido y aceptado como una tecnología de bajo coste, que promueve la recuperación y re-uso de fuentes de agua, en beneficio de pequeñas comunidades que no pueden disponer de sistemas de tratamiento convencionales según Billore et al. (1999) y White (1995).

Según Prieto (2008) la Fundación de Investigación del Ambiente Acuático (WERF), registró 1789 unidades de Humedales Artificiales en 19 países que cumplían con criterios previamente establecidos, y el 81% de los sistemas reportados atienden poblaciones menores a 5000 habitantes, reflejo de su amplio uso en pequeñas poblaciones, principalmente en Europa y Estados Unidos.

Los humedales artificiales tienen una elevada eficiencia en las reducciones de materia orgánica, nutrientes y patógenos, reduciéndose los posibles efectos adversos de los vertidos sobre los medios receptores. La depuración en dichos sistemas, se realiza mediante la combinación de procesos físicos, químicos y biológicos; incluyendo la sedimentación, precipitación, adsorción a partículas del

suelo, asimilación por el tejido vegetal y transformaciones microbiológicas según Haberl et al. (1999).

En los humedales artificiales se utilizan como medio grava, arena u otro tipo de materiales del suelo, y para tratar aguas residuales en especial, necesitan un tratamiento previo, el cual dependerá del tipo y calidad del agua a tratar. Hay que tener especial precaución si las aguas residuales proceden mayoritariamente de la industria, ya que se debe evitar el vertido de compuestos tóxicos del sistema (Kuschk et al. 1999, Knight 1994, U.S. Environmental Protection Agency 1993, 1995 y 1998).

Según Trinidad (2006), las ventajas de este tipo de sistema de tratamiento de aguas residuales frente a los sistemas convencionales mecanizados, son: a) la simplicidad en operación, ya que estos requieren un tiempo bajo de operarios y pocos equipos electromecánicos y pueden ser explotados por operarios con poca experiencia; b) un consumo energético mínimo o nulo, en general limitado al pre-tratamiento o elevaciones; c) una baja producción de residuos durante la operación del sistema, bajo costo de explotación, mantenimiento; d) fiabilidad en la operación del sistema de tratamiento, con tiempos de permanencia hidráulica muy altos; e) un bajo impacto ambiental, y creación y restauración de zonas húmedas aptas para potenciar vida salvaje, educación ambiental y zonas de recreo.

Los principales inconvenientes que presentan los sistemas de humedales frente a sistemas convencionales, según Bederski et al. (2003), es que requieren una superficie superior (20-80 veces superior), una larga puesta en marcha, desde

meses hasta un año, son difíciles de diseñar bien dado al alto número de procesos y mecanismos implicados en la eliminación de contaminantes, y pocos o ningún factor de control durante la operación.

3.3.1.1. Clasificación de los humedales artificiales

Los sistemas de humedales se clasifican típicamente por el tipo de vegetación presente y/o el tipo de flujo según la posición de la superficie del agua (U.S. Environmental Protection Agency 2000a).

La primera clasificación dependen de las características de la especie macrófita que predomina, estas son: 1) Sistemas de macrófitas no arraigados o flotantes, incluye aquellas especies cuya raíz está en el sustrato y flotan en la superficie del agua como *Potamogeton natans*, *Nuphar sp.*, *Nymphaea sp.*, y otras no enraizadas en el sustrato y cuyas hojas son también flotantes como por ejemplo *Lemna sp.*, *Eichornia crassipes*; 2) Sistemas de macrófitas emergentes, aquellas plantas que tienen parte de su estructura vegetal dentro del agua, y otra parte aérea. Comprende especies como *Phragmites australis*, *Glyceria sp.*, *Typha sp.*, *Iris sp* y *Heliconia psittacorum* que se utiliza en esta investigación; 3) Sistemas de macrófitas sumergidas, cuyos tejidos fotosintéticos se encuentran totalmente sumergidos en el agua, y generalmente sus flores son aéreas, por ejemplo *Elodea*, *Myriophyllum*, *Isoetes*, *Lobelia* (Brix 2003). Cabe destacar que el sistema que se emplea habitualmente son las macrófitas emergentes (Cooper et al. 1996).

Y en la segunda clasificación según Cruz et al. (2006), depende de la ubicación de la lamina de agua en el humedal, estas son: a) Sistemas de flujo superficial o terrestres, en donde la lámina de agua se halla en superficie en contacto con la atmósfera; b) Sistemas de flujo subsuperficial, en el que la lámina de agua se encuentra en profundidad. Ambos sistemas requieren barreras o trazadores de líneas impermeables para prevenir la infiltración del agua superficial contaminada en el agua subterránea.

3.3.1.1.1 Sistema de Flujo Superficial Libre (SFSL)

Los sistemas de flujo libres de la superficie del agua simulan un tipo de humedal natural en el cual las corrientes contaminadas están sobre el suelo en las profundidades bajas. Estos sistemas consisten típicamente de estanques o canales, con alguna clase de barrera subterránea para prevenir la filtración, suelo u otro medio conveniente a fin de soportar la vegetación emergente, y agua en una profundidad relativamente baja (0,1 a 0,6 m) que atraviesa la unidad según Chafloque & Gómez (2006).

La profundidad baja del agua, la velocidad baja del flujo, y la presencia de tallos de planta y basura regulan el flujo del agua. Se aplica agua residual pre-tratada a estos sistemas y el tratamiento ocurre cuando el flujo de agua atraviesa lentamente el tallo y la raíz de la vegetación emergente (Figura 3).

Sin embargo, estos tienen ventajas de un costo más bajo de la instalación y una hidráulica más simple que las hace todavía usadas extensamente en tratar el agua contaminada de los ríos o de los lagos para la restauración de la salida de precipitación excesiva de aguas residuales tratadas secundarias o terciarias del efluente (Kruzic & White 1996).

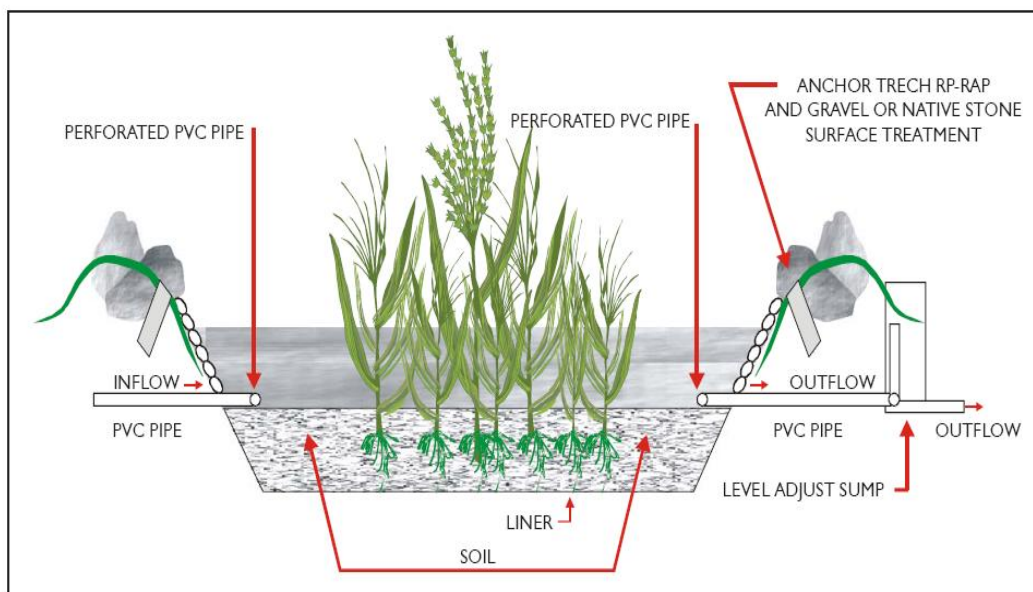


Figura 3. Sistema de Flujo Superficial Libre (SFSL) (Fuente: Chafloque & Gómez 2006).

3.3.1.1.2. Sistemas de Flujo Subsuperficial (SFSS)

Estos sistemas de Flujo Subsuperficial (SFSS) o también llamados como Sistemas de Flujo Bajo Superficie (SFBS) son diseñados con el propósito de obtener niveles de tratamiento secundarios, también son denominados «la zona de raíces» o «filtros de piedras de junco y caña», desarrollado en Alemania Oriental en 1964, según Chafloque & Gómez (2006).

Los Sistemas de Flujo Subsuperficiales utilizan el flujo de agua contaminada con un medio permeable, tal como arena o grava, para guardar el agua debajo de la superficie y para reducir al mínimo olor (Figura 4). Estos sistemas son similares a los filtros horizontales por goteo en las plantas de tratamiento convencionales. Se caracterizan por el crecimiento de plantas emergentes usando el suelo, grava o piedras como sustrato de crecimiento en el lecho del canal. Dentro del lecho los microbios facultativos atacan al medio y las raíces de las plantas, contactando de este modo el agua residual que fluye horizontalmente a través del lecho; mientras que el sobrante baja a la superficie del medio (Kadlec et al. 1993).

Puesto que la superficie del agua en sistemas de SFSS se mantiene debajo de la extremidad de los medios de la grava, hay pocos problemas que se presentan con los olores; los vectores de insectos; la exposición pública; la protección térmica debido a la acumulación de restos vegetales y del flujo subterráneo, ventaja que es interesante en los países nórdicos, donde la cobertura del hielo y nieve invernal no afectan el proceso; tratar rellenos de lixiviados, aguas residuales de la granja y un poco de aguas residuales industriales (Chang et al. 2001).

Entre los inconvenientes, cabe destacar: el mayor coste de construcción, debido fundamentalmente al material granular; el coste puede incrementarse hasta un 30 %; menor valor como ecosistema para la vida salvaje debido a que el agua es difícilmente accesible a la fauna; colmatación del medio granular por grasas y aceites; aportes continuos de materiales finos inertes (Trinidad 2006).

Los humedales subsuperficiales se agrupan en sistemas de flujo horizontal (el substrato se encuentra en condiciones de constante saturación hídrica), y flujo vertical (el medio no se encuentra permanentemente saturado, ya que el agua se aplica normalmente en intervalos regulares y percola a través del medio) según Cruz et al. (2006) y Wallace & Knight (2004).

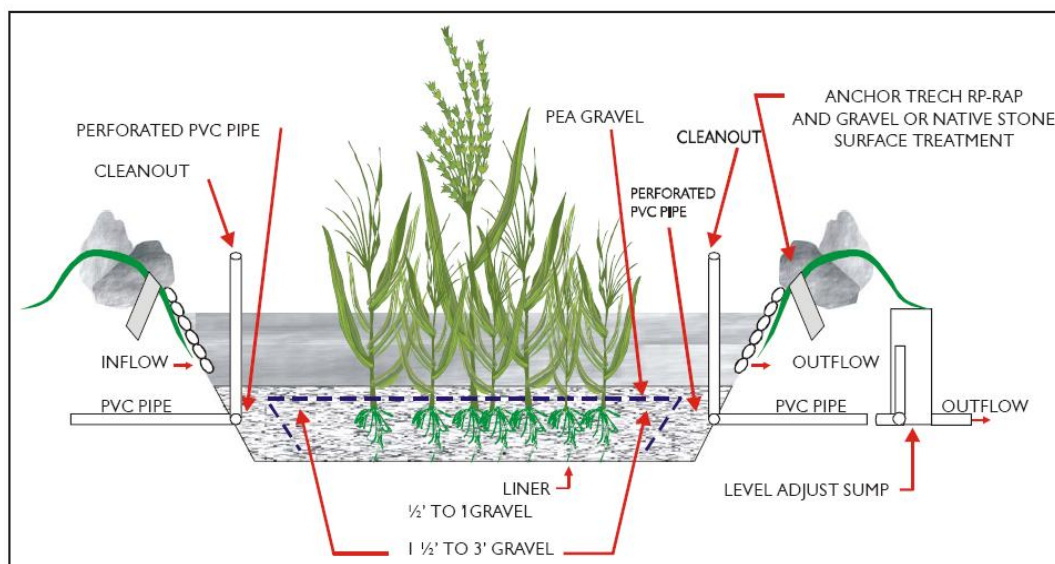


Figura 4. Sistema de Flujo de Bajo Superficie (SFBS) (Fuente: Chafloque & Gómez 2006).

3.3.2. Carga orgánica en Sistemas de Humedales

La carga orgánica que se aplica a un humedal artificial, es el producto de la concentración media de DBO (Demanda Bioquímica del Oxígeno), es decir, la cantidad de oxígeno usado en la estabilización de la materia orgánica carbonacea y nitrogenada por acción de los microorganismos en condiciones de tiempo y

temperaturas especificadas según Lara 1(999), por el caudal medio, determinado en el mismo sitio, que se expresa en kilogramos por día (kg/d) o metros cúbicos por día (m^3/d).

En un humedal artificial se debe buscar que la capacidad de asimilación de éste, siempre supere a la carga orgánica que se aporta con el agua residual.

La carga de DBO se debe considerar para diseñar la superficie del humedal, sabiendo que: la carga máxima de DBO, se concentra a la entrada del afluente, pudiendo ser del orden de 140 a 800 ppm sino existe tratamiento previo; lo normal es que la carga que entra oscile entre 40 y 300 ppm; la carga mínima de DBO, se concentra a la salida del efluente y debe estar incluida en rangos de 10 a 80 ppm; la carga orgánica no es uniforme, mientras que la entrada de oxígeno sí lo es en toda la superficie del humedal artificial; el aporte oscila entre 5 y $45\text{g}/\text{m}^2.\text{día}$ para las plantas emergentes, y entre 1 y $30\text{g}/\text{m}^2.\text{día}$ para el resto, con medias, de $20\text{--}35\text{g}/\text{m}^2.\text{día}$; en sistemas de flujo superficial, la carga de DBO, no debe superar los $140\text{ kg}/\text{ha}.\text{día}$ con recomendación media de $67\text{ kg}/\text{ha}.\text{día}$ (Seoánez 2005).

Según la U. S. Environmental Protection Agency (2000b), la eliminación de DBO_5 particulada, ocurre rápidamente por sedimentación y filtración por partículas en los espacios entre la grava y las raíces. La DBO_5 soluble es eliminada por los microorganismos que crecen en la superficie de la grava, raíces y rizomas de las plantas. La degradación de la materia orgánica es aerobia en micro-sitios de la superficie de la raíces de las plantas, pero en el resto del lecho sumergido ocurre por vías anaerobias: fermentación metánica y sulfato reducción.

3.4. Ecofisiología

La “ecofisiología”, es el estudio de las adaptaciones fisiológicas de los organismos al hábitat o al medio ambiente (Salisbury & Ross 1994), lo cual presenta la particularidad de estudiar los fenómenos fisiológicos fuera del laboratorio, en su medio ambiente natural, el cual está sujeto a cambios y alteraciones, como resultado de fenómenos naturales o producto de la actividad humana. Un campo más específico de esta ciencia, es la “Ecofisiología vegetal”, que estudia las respuestas fisiológicas de las plantas frente a diferentes condiciones ambientales, desarrollando técnicas que permiten medir el micro-medio ambiente, las relaciones hídricas y los patrones de intercambio gaseoso (BASES CONCEPTUALES DE LA ECOFISIOLOGÍA VEGETAL-LIBRO DE BOTÁNICA ONLINE. <www.forest.ula.ve/~rubenhq/ecofisiologia/> consulta: 09/febrero/2009).

La ecofisiología vegetal está abriendo sus horizontes en diferentes estudios que conllevan a brindar alternativas de solución a las zonas ambientales contaminadas, desarrollando técnicas que permiten saber cuales son los componentes esenciales a nivel fisiológico en una aproximación inigualable a la que nunca se pensó llegar, como lo son intercambios de CO₂ en una hoja, cantidad de carbono en las raíces y en las hojas, conductividad estomática como índice de la apertura y cierre de estomas, y la tasa de producción de las diferencias en el crecimiento vegetal según el Potencial hídrico y Fluorescencia en las distintas condiciones ambientales, etc (Reignosa et al. 2004).

3.4.1. El papel que juegan las plantas en los Humedales Artificiales.

Las plantas del humedal son una parte integrante de estos sistemas según Brix 1987, Reed et al 1988, WPCF (1990), pero hay poca información cuantitativa disponible que compare sus características del crecimiento y funcionamiento del tratamiento en estos sistemas artificiales, y de ahí lo relevante de esta investigación.

Las plantas tienen dos importantes funciones en estos procesos: suministran el oxígeno necesario para que estos procesos sean realizados por las propias plantas, ya sea formándolo por fotosíntesis o tomándolo del aire e inyectándolo hasta la zona radicular según Cruz et al. (2006). La transferencia de oxígeno hacia la zona radicular por parte de estas plantas es un requisito imprescindible para que la eliminación microbiana de algunos contaminantes se realice con eficacia, estimulando además la degradación de materia orgánica; y estabilizando la conductividad hidráulica de la matriz porosa. El cual debe de ser de menos de 1 m de profundidad con soporte impermeable para evitar la infiltración de las aguas a tratar en la tierra para lo cual generalmente se construye una o más celdas colocadas en serie (Reed et al. 1995, González et al. 2000, Kuschik et al. 1999, Knight 1994, Jespersen et al. 1998, Kadlec & Knight 1997).

La zona activa de reacción de la planta en humedales construidos es la zona de la raíz (o rizósfera) (Figura 5). En 1903 se introdujo el término “rizósfera” por Hiltner & Stömer, este puede ser subdividido en la “endorizósfera (el interior de la raíz)” y el “ectorizósfera (los alrededores de la raíz)” (Elliott et al. 1984). Aquí es donde

ocurren los procesos fisicoquímicos y biológicos que son inducidos por la interacción de las plantas, de los microorganismos, del suelo y de los agentes contaminadores según Bederski et al. (2003).

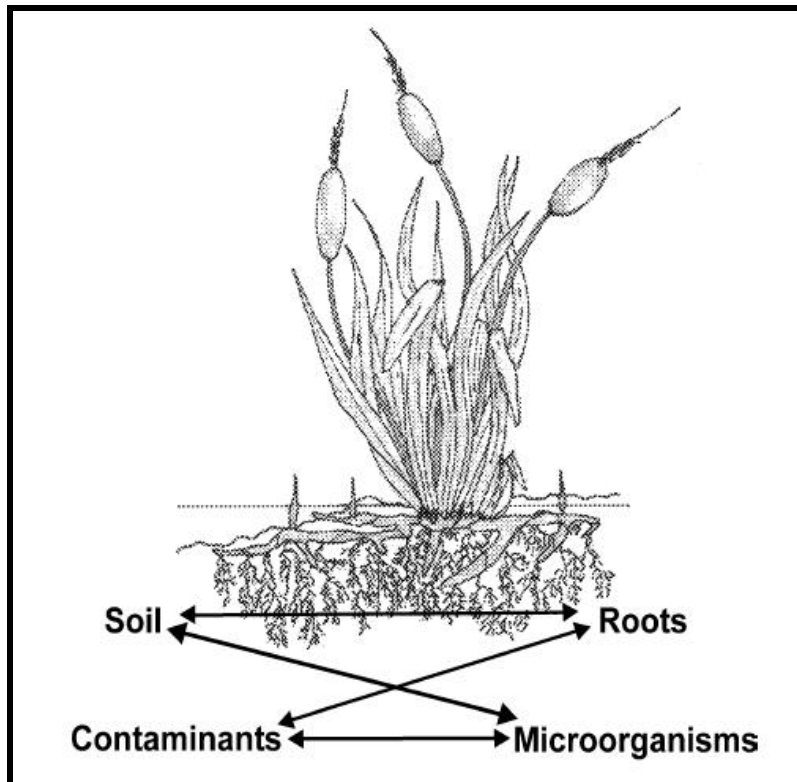


Figura 5. Interacción entre la zona raíz en un Humedal Artificial (Fuente: Bederski et al. 2003).

Según Tanner (1996) los requisitos generales de las plantas, convenientes para el uso en sistemas de tratamiento de aguas residuales en humedales artificiales, incluyen: 1) Aceptabilidad ecológica, es decir, ninguna mala hierba, riesgos o peligro significativos de la enfermedad a la integridad ecológica o genética que rodean los ecosistemas naturales; 2) Tolerancia de condiciones climáticas locales, de parásitos y de enfermedades; 3) Tolerancia de agentes contaminadores y de

condiciones abnegadas hipertróficas; 4) Propagación lista, y establecimiento, extensión y crecimiento rápidos; y 5) Alta capacidad del retiro del agente contaminador, con la asimilación y el almacenaje directos, o indirectamente por el realce de transformaciones microbianas tales como nitrificación (vía lanzamiento del oxígeno de la raíz-zona) y desnitrificación (vía la producción de substratos del carbón).

Los requisitos específicos variarán dependiendo del papel funcional de las plantas del humedal en el sistema de tratamiento, relacionado con el tipo de diseño del humedal empleado y su modo de operación, velocidad de carga y las características de las aguas residuales.

Existen diversos estudios que evalúan el efecto de las plantas sobre el rendimiento hidráulico de un humedal SFSS según Brix (1993) y Tanner (1996), en el que se utilizan las macrófitas acuáticas emergentes. En la Tabla 2, se proporciona información sobre las especies emergentes más utilizadas en la depuración de aguas residuales. Dichas plantas, realizan diversas funciones que las señalan como un componente indispensable según Kadlec & Knight (1997) y Brix (1994), porque actúan como canales de transporte de gases (dióxido de carbono, metano, etc) hacia la atmósfera y oxígeno hacia el relleno; las raíces influyen en la conductividad hidráulica del terreno y compactan el lecho dotándolo de estabilidad; absorben nutrientes y actúan como soporte de microorganismos.

Tabla 2. Las especies emergentes más utilizadas en la Depuración de Aguas Residuales (Lara 1999).

Familia	Nombre latino	Nombres comunes más usuales	Temperaturas, °C		Máxima salinidad tolerable, ppt	Rango efectivo de Ph
			Deseables	Germ. de las semillas		
Ciperáceas	<i>Carex sp.</i>	-	14-32			5-7,5
	<i>Eleocharis sp.</i>	-				
	<i>Scirpus lacustris L. (*)</i>	Junco de laguna	18-27		20	4-9
Gramíneas	<i>Glyceria fluitans (L.) R. Br.</i>	Hierba del maná				
	<i>Phragmites australis (Cav) Trin. Ex Steudel (*)</i>	Carrizo	12-23	10-30	45	2-8
Iridáceas	<i>Iris pseudacorus L.</i>	Lirio Amarillo Espadaña Fina				
Juncáceas	<i>Juncos sp.</i>	Juncos	16-26		20	5-7,5
Tifáceas	<i>Thypha sp (*)</i>	Eneas, Aneas, Espadaña	10-30	12-24	30	4-10

(*) Especie más utilizada

Un tipo especial de macrófito son los helófitos, plantas capaces de arraigar en suelos abnegados o encharcados, con una parte sumergida y otra área emergente - siendo *Heliconia psittacorum* una de ellas-. Los helófitos más usados en

depuración son aneas (*Thypa*), carrizos (*Phragmites*), juncos (*Juncos*), *Scirpus*, *Carex*, etc. Los helófitos son capaces de transportar oxígeno desde los tallos y hojas hacia sus raíces y rizomas, pero en los humedales subsuperficiales, la cantidad de oxígeno aportada es muy pequeña en comparación con la demanda de las aguas residuales, por lo que los procesos de eliminación de materia orgánica son básicamente anaerobios, según Lahora (2003).

La capacidad de transferencia de oxígeno por los helófitos se estima entre 0-3 g/O₂/m²/día, equivalente a 30 Kg DBO₅/ha/día, muy bajos para las cargas usuales del agua residual. Por otra parte, la transferencia de oxígeno desde la atmósfera se sitúa entre 0-0.5 g/O₂/m²/día, por lo que las condiciones en el interior de los humedales de flujo subsuperficial son fuertemente reductoras, según Lienard (1987) y U. S. Environmental Protection Agency (2000a).

Los helófitos asimilan macronutrientes (N y P), y micronutrientes, incluidos metales pesados, en unas tasas calculadas, en 12-120 g N/m²/año y 1.8-18 g P/m²/año; muy bajas en comparación con el contenido de aguas residuales, por ello, se debe utilizar bajas concentraciones de carga orgánicas para que los helófitos puedan remover eficientemente los nutrientes en un menor tiempo (Reedy & Debusk 1985).

3.4.1.1. Las plantas implicadas en un Sistema Hidráulico

Sí se considera los procesos anaerobios que predominan en sistemas de flujo subsuperficiales, y los procesos aerobios que prevalecen generalmente en los sistemas de flujo superficiales, se recomienda analizar el sistema hidráulico en el que las plantas se involucran, ya que el tiempo de retención hidráulico, incluyendo la longitud del tiempo, y el agua que está en contacto con las raíces de la planta, afecta al grado en el cual la planta juega un papel significativo en el retiro o avería de agentes contaminadores. Así también, se considera que las plantas afectan perceptiblemente al retiro de agentes contaminadores en sistemas subsuperficies horizontales con los tiempos de retención hidráulicos largos usados para limpiar las aguas residuales municipales, su papel es de menor importancia en retiro del agente contaminador en los filtros verticales periódicamente cargados, que tienen generalmente tiempos de retención hidráulicos cortos (Wissing 1995).

Según Bederski et al. (2003), un aspecto importante de los procesos complejos que ocurren en la rizósfera es la interacción entre las raíces/los rizomas y la matriz del suelo. Este último, es el apoyo principal para el crecimiento vegetal y las películas microbianas, y presenta una decisiva influencia en los procesos hidráulicos por su composición química y parámetros físicos tales como distribución de la granulometría, espacios de poro intersticiales, tamaños de grano eficaces, grados de irregularidad y el coeficiente de permeabilidad. Estos parámetros físicos indican ciertos estados hidráulicos del suelo y considerablemente influyen el flujo de aguas residuales en el humedal construido y en última instancia el retiro de contaminantes.

La experiencia en Alemania y los estudios de largo plazo de la hidráulica de humedales contruidos con diversos parámetros del suelo, indican que una mezcla de arena y de grava produce los mejores resultados en términos de ambas condiciones hidráulicas y el retiro de los contaminantes según Wissing (1995), y el crecimiento de la raíz afecta a la calidad (hidráulica) física de los suelos (Kickuth 1984, Cooper & Boon 1987, Wissing 1995).

3.4.1.2. Remoción de nutrientes

La remoción de nutrientes es quizá el camino más importante para la remoción de contaminantes en los sistemas de humedales que generan un deterioro del recurso hídrico y en general de los ecosistemas acuáticos. Esta remoción la realizan las plantas en la captación de contaminantes que son también formas de nutrientes esenciales para ellas, tales como nitrato, amonio y fosfato, que son fácilmente asimilados fisiológicamente.

La velocidad de remoción de contaminantes por las plantas varía extensamente, dependiendo de la concentración del contaminante en el tejido y de la velocidad de crecimiento de ella. Las plantas leñosas, es decir, árboles y arbustos, proporcionan un almacenamiento a largo plazo de contaminantes, comparado con las plantas herbáceas. Sin embargo, la velocidad de captación de la contaminante unidad de área de tierra es, a menudo, mucho más alta para las plantas herbáceas, o macrófitas según Chafloque & Gómez (2006).

Otro componente esencial para la remoción de nutrientes es la interacción suelo-planta, que posibilita que se den las condiciones aerobias y anaerobias, necesarios para los procesos microbianos en la rizósfera, los cuales son importantes para el funcionamiento de los mecanismos de control de la biomasa autotrófica y heterotrófica en relación con la retención y recirculación del sustrato, la relación y acople entre el metabolismo microbial y la retención de contaminantes por parte de las macrófitas. Para los sistemas de humedales construidos se remueven nutrientes en grava-planta, desde ambos procesos de la nitrificación-desnitrificación y la absorción de la planta que son los mecanismos principales y eficaces de remoción de nitrógeno debido a su alta porosidad (Brix 1993).

El nitrógeno y el fósforo son los principales nutrientes considerados para el retiro de ellos de las aguas residuales en sistemas de humedales. Los mecanismos para el retiro del nitrógeno incluyen la absorción por las plantas y otros organismos vivos, saturación de amoníaco (mineralización), nitrificación, desnitrificación, amoníaco volatilización, e intercambio catiónico para el amonio según Brix (1993). En cuanto a los mecanismos del retiro para el fósforo éstos incluyen la adsorción química y precipitación y las transformaciones biológicas (Sakadevan & Bavor 1998).

Estudios de caso de humedales plantados para tratamiento de agua residual han demostrado remociones hasta del 98% de nitrógeno total, 56% de amonio, 96% de fósforo total y 84% de ortofosfato; no obstante, nitritos y nitratos incrementaron un

82%, aunque las concentraciones medias de estos fueron mucho mas bajas que las de amonio o nitrógeno total. (Schaafsma et al. 2000).

3.4.1.2.1. Remoción de nitrógeno

La remoción de nitrógeno en humedales puede alcanzar valores por encima del 80%, éste puede medirse como nitrógeno orgánico y amoniacal (la concentración de estas dos se presenta como nitrógeno total Kjeldhl (NYK)) nitrito y nitrato, según Lara (1999).

Para la remoción del nitrógeno se requieren dos o tres etapas de crecimiento de las plantas, sistemas raíces, capas de residuos y materiales de bentos para alcanzar el equilibrio.

El nitrógeno orgánico que entra al humedal artificial sufre descomposición y mineralización, y es descargado entonces en forma amoniacal al agua. El nitrógeno orgánico presenta también materia particulada como sólidos orgánicos cuando entra, pero estos son removidos rápidamente.

Ahora bien, para remover el amoniaco se realizan los procesos de nitrificación y desnitrificación. El proceso de nitrificación consiste en la oxidación biológica del nitrógeno del amoniaco a nitritos y luego a nitratos. En la conversión de amonio a nitritos representada por la *Nitrosomonas sp.* ocurre el mayor consumo de oxígeno (4.33 mg O₂ / mg N-NH₄⁺ oxidado), además de que se generan iones hidrógeno,

propiciando en el cultivo un descenso del pH. En un primer paso, la enzima amonio mono-oxigenasa, transforma al amonio en hidroxilamina, que posteriormente se convierte en nitrito, mediante la hidroxilamina óxidoreductasa, representada por *Nitrobacter sp* (Taiz & Zeiger 2006).

La nitrificación se realiza cuando existen unas condiciones aeróbicas, se tiene la suficiente alcalinidad, y temperatura adecuada, y después que la mayoría DBO ha sido removido, para que los organismos nitrificantes puedan competir con los organismos heterótrofos por el oxígeno disponible.

Las concentraciones de oxígeno disuelto que estén por encima de 1 mg /l son esenciales para que ocurra el proceso de nitrificación. Si los niveles de oxígeno disuelto caen por debajo de este valor, el oxígeno se convierte en el nutriente limitante y la velocidad de nitrificación disminuye o el proceso se detiene (Atlas et al. 2002).

Cuando la nitrificación a tenido como condición limitante la disponibilidad de oxígeno en los humedales subsuperficiales, estos requieren de una adecuada profundidad que sea igual a la penetración potencial de las raíces que posibilitan la disponibilidad de oxígeno relacionado con la eficiencia y la transferencia de oxígeno atmosférico, en la que, pueda según la relación teórica, tener 4,6 g de oxígeno para oxidar 1 g de nitrógeno amoniacal.

La desnitrificación, por el contrario, es un proceso respiratorio anaerobio heterotrófico del tipo anóxico, en el que la reducción del nitrato hasta nitrógeno gaseoso sigue una serie de pasos que involucran la actividad de enzimas

diferentes, las cuales son: nitrato reductasa; nitrito reductasa; oxido nítrico reductasa; oxido y nitroso reductasa, según Atlas et al. (2002).

La remoción de nitritos por desnitrificación biológica requiere de condiciones anóxicas, una adecuada fuente de carbono y condiciones adecuadas de temperatura y dependerá de los organismos presentes en el agua residual o que se encuentren en forma natural en el humedal.

La respuesta fisiológica de las plantas a la disponibilidad de nitrógeno ha sido documentada por autores como Egli & Schmid (1999), Damatta et al. (2002), Cechin & Fumis (2004), Chen et al. (2005). Estos estudios indican que la capacidad fotosintética depende altamente de una adecuada concentración de nitrógeno en hojas, lo cual sugiere que la mayoría del nitrógeno foliar es usado para la síntesis de componentes del aparato fotosintético. Graeff & Claupein (2003) obtuvieron que cuando la concentración de nitrógeno foliar es menor al 3% del peso seco, la planta se ve afectada en su metabolismo fotosintético, en particular la proteína rica en nitrógeno Rubisco que juega un papel importante en la asimilación del carbono atmosférico, según Evans (1989).

3.4.1.3. Parámetros fisiológicos

3.4.1.3.1. Potencial Hídrico

Los organismos vivos, incluidas las plantas para, mantener y reparar sus estructuras altamente organizadas, así como para crecer y reproducirse, necesitan de un aporte continuo de energía libre.

El potencial químico del agua es una expresión cuantitativa de la energía libre asociada con el agua, porque gracias a ella, sus moléculas presentan la capacidad de moverse en un sistema particular. Esta representa el potencial para realizar trabajo. Cabe destacar que el potencial químico es una cantidad relativa, que se expresa como la diferencia entre el potencial de una sustancia en un estado determinado y el potencial de la misma sustancia en un estado de referencia.

El potencial hídrico (Ψ) es el potencial químico del agua dividido por el volumen parcial molar del agua (el volumen de 1 mol de agua: $18 \times 10^{-6} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$). Es así que el potencial hídrico es una medida de la energía libre del agua por unidad de volumen (Jm^3) según Taiz & Zeiger (2006). Esto significa que desde el punto de vista energético, es el trabajo que habría que suministrar a una unidad de masa de agua "ligada" al suelo, o a los tejidos de una planta, para llevarla desde ese estado de unión, a un estado de referencia, correspondiente al del agua pura (o "libre") a la misma presión y temperatura (Connor & Loomis 2002).

El valor de referencia, o de estado "libre", adopta un valor igual a cero, por lo que todos los valores del potencial que caracterizan al agua "ligada" toman un valor negativo, puesto que sería necesario suministrar trabajo para llevar el agua a un potencial igual a cero. El potencial hídrico puede expresarse en unidades de energía por unidades de masa o volumen, la unidad de uso más corriente el

megapascal (MPa = 10 bares) aunque años atrás reciente también se han utilizado la atmósfera y el bar (1 bar= 0.987 atm) (Salisbury & Ross 1994).

El movimiento del agua en el suelo y en las plantas ocurre de manera espontánea a lo largo de gradientes de energía libre, desde regiones donde el agua es abundante, y por lo tanto tiene alta energía libre por unidad de volumen (mayor Ψ) a zonas donde la energía libre del agua es baja (menor Ψ).

3.6.1.3.1. 1. Componentes del Potencial Hídrico

El Ψ está fundamentalmente determinado por el efecto osmótico, asociado con la presencia de solutos, por las fuerzas mátricas que adsorben o retienen agua en matrices sólidas o coloidales, por el efecto de la altura y por presiones positivas o negativas o tensiones presentes en los recipientes o conductos donde se encuentra según Connor & Loomis (2002). Estos factores tienen un efecto aditivo que típicamente disminuye el potencial hídrico del suelo o planta con respecto al potencial del agua pura. Así, en un sistema particular, el potencial hídrico total es la suma algebraica de cuatro componentes:

$$\Psi_h = \Psi_o + \Psi_m + \Psi_g + \Psi_p$$

Donde Ψ significa potencial, y los subíndices h, o, m, g y p, significan hídrico, osmótico, mátrico, gravitatorio, y de presión, respectivamente.

Pero en el caso del potencial hídrico en plantas, los principales componentes son el osmótico y el de presión, reduciéndose la ecuación a:

$$\Psi_h = \Psi_o + \Psi_p$$

El potencial osmótico (Ψ_o), representa el efecto de los solutos disueltos sobre el potencial hídrico. Los solutos disminuyen la energía libre del agua por dilución de la misma. Se trata principalmente de un efecto de la entropía, es decir, la mezcla de solutos y el agua aumenta el desorden del sistema y disminuye su energía libre. Esto significa que el potencial osmótico es independiente de la naturaleza específica del soluto según Taiz & Zeiger (2006).

En el caso de soluciones diluidas de sustancias no disociables como la glucosa, el potencial osmótico puede ser calculado mediante la ecuación de Van't Hoff:

$$\Psi_o = -RTcs$$

Donde "R" es la constante de los gases ($8.32 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), "T" es la temperatura absoluta (en grados Kelvin) y "c" es la concentración de solutos expresada como osmolidad (moles totales de solutos disueltos por litros de agua (mol^{-1}), el signo negativo indica que el soluto disuelto reduce el potencial hídrico de la solución respecto al estado de referencia que es el agua pura.

En el caso específico de las plantas, el potencial osmótico está determinado por la concentración de sustancias osmóticamente activas en la vacuola. En las células vegetales siempre tendrá valores negativos, los que varían junto al volumen celular, acercándose al cero en células totalmente hidratadas (turgentes).

El potencial de presión (Ψ_p) indica la presión hidrostática de la solución, esta se mide como la desviación de la presión atmosférica, las presiones positivas aumentan el potencial hídrico, mientras que las negativas lo reducen.

Las presiones hidrostáticas positivas en las células vegetales es lo que se conoce como presión de turgencia. Por lo tanto, esta presión en las células vegetales corresponde a la presión que se ejerce sobre las paredes celulares, provocada por el aumento en el volumen vacuolar, debido al ingreso de agua a la célula según Salisbury & Ross (1994). Es decir, se genera como consecuencia de la extensión elástica de la pared celular. En una célula totalmente turgente, el potencial hídrico es cero, de tal modo que el potencial de presión es igual, pero con signo inverso al potencial de solutos. A medida que se pierde agua, disminuyen el volumen celular y con éste la presión de turgencia, pudiendo llegar hasta el punto de turgencia cero (plasmólisis incipiente). En este punto se observa, por lo general, marchitez visible.

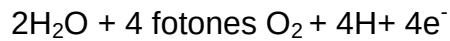
El potencial hídrico y sus componentes influyen fuertemente en el crecimiento celular, la fotosíntesis y la productividad de los cultivos. El potencial hídrico es un buen indicador de la salud de la planta porque se usa con frecuencia como una medida del estado hídrico de la planta, es decir, es una medida de lo hidratada que está una planta y proporciona un índice relativo del estrés hídrico experimentado por ella, debido al déficit hídrico que provoca la inhibición del crecimiento vegetal y la fotosíntesis.

3.4.1.3.2. Fluorescencia

La fase luminosa, fase clara, fase fotoquímica o reacción de Hill es la primera etapa de la fotosíntesis, que convierte la energía solar en energía química. Se denomina fase luminosa o clara, ya que al utilizar la energía lumínica, sólo puede llevarse a cabo en condiciones de alta luminosidad, ya sea natural o artificial. La luz es absorbida por complejos formados por clorofilas y proteínas. Estos complejos clorofila-proteína se agrupan en dos unidades llamadas Fotosistemas. Los Fotosistemas I Y II son centros de reacción primaria que se localizan en los Tilacoides (sacos membranosos de los cloroplastos) donde tiene la conversión primaria de los fotones de luz solar en energía química, los dos Fotosistemas actúan coordinadamente, en cada uno de ellos hay un verdadero acto fotoquímico dependiente de la luz solar, en el PSI y II hay 2 moléculas principales de clorofila, en el PSI la P700 que absorbe la máxima longitud de onda del espectro fotoeléctrico de la luz solar a los 700 nm (nanómetros) mientras que en el PSII la molécula de antena o centro de reacción primaria la P680 absorbe la máxima longitud de onda a los 680 nm desencadenando ambas las reacciones dependientes de la luz solar (Fotoionización de los Pigmentos P700 / P680 , Fotólisis del Agua, Obtención de una fuente reductora (NADPH_2), Fotofosforilación), según Taiz & Zeiger (2006).

En el Fotosistema II, entonces, se realiza el proceso de conversión fotoquímica y la emisión de la energía en forma de fluorescencia. El proceso implica la hidrólisis

del agua y el inicio de transporte de electrones donde los fotones producen un potencial oxidativo para oxidar el agua a oxígeno:



La fluorescencia es una de las técnicas mas recientemente utilizada como un parámetro indicador para evaluar el efecto de un tipo particular de estrés sobre la actividad fisiológica de la planta, según Lichtenthaler & Burkart (1999) y Del & Toivonen (2003).

Cuando una planta se expone a una fuente de energía lumínica, los electrones de la clorofila son excitados, y un electrón excitado puede seguir tres caminos distintos: descargar su electrón para iniciar el proceso de la fotosíntesis (Fotoquímica), puede disiparse en forma de calor o puede ser reemitida como luz, fenómeno conocido como la fluorescencia. Estos procesos son competitivos entre sí, de modo que cualquier aumento en la eficiencia de uno de ellos dará como resultado la disminución en el rendimiento de los otros dos. Por lo tanto, midiendo la producción de fluorescencia de la clorofila, se puede obtener información acerca de los cambios en la eficiencia fotoquímica y la disipación de calor (Maxwell & Johnson 2000).

La fluorescencia es la producción de luz que acompaña a la rápida disminución en la energía de los electrones que se encuentran en estado excitado de la clorofila según Krause & Weis (1991) y Maxwell & Jonson (2000).

Esta técnica evalúa la fluorescencia fotosintética usando pulsos de luz fuerte (también llamados pulsos de saturación), permitiendo análisis extremadamente detallados sobre la eficiencia fotosintética in situ, evaluando las alteraciones del aparato fotosintético en función del transporte de electrones (ETR) y se basa en el hecho que cuando el transporte de electrones es bloqueado por algún factor de estrés, a nivel del sitio de oxidación del agua en el PSII, los niveles de fluorescencia disminuyen (Bilger et al. 1995, Gemel et al. 1997, Porter 2000).

La eficiencia fotosintética en plantas (F_v/F_m) refleja la eficiencia cuántica potencial del PSII y se usa como un indicador sensitivo de la eficiencia fotosintética de las plantas (Kooten & Snel 1990). La eficiencia cuántica es regulada por mecanismos de control fisiológico que optimizan el desempeño de la planta y proveen protección de los efectos dañinos de luz excesiva según Krall & Gerald (1992) y Horton et al. (1996).

La eficiencia fotosintética presenta sus componentes en la siguiente ecuación:

$$F_v/F_m = (F_m - F_o) / F_m$$

Donde la fluorescencia máxima (F_m), es la medida máxima de la fluorescencia cuando los centros de reacción de PSII están siendo totalmente reducidos, en el transporte de electrones del Fotosistema II al Fotosistema I; la fluorescencia mínima (F_o), es el nivel inicial de la fluorescencia que es alcanzado después de la iluminación, este valor es característico de hojas completamente adaptadas cuando la mayor parte de los centros de reacción están abiertos y el aceptor

primario de PSII, esta completamente oxidado; y la diferencia entre F_m y F_o es la fluorescencia variable.

Por lo tanto, la medición de las tasas fotosintéticas de la vegetación en un humedal es relevante, por ser consideradas estas, un indicador fisiológico del metabolismo de la planta y de su participación en la transformación de las diferentes formas nitrogenadas en el sistema. Igualmente, permiten evaluar la producción de biomasa vegetal que participa en la remoción de nutrientes del humedal y en las variaciones espacio-temporales de la acumulación de detritus en la rizósfera que actúa como sustrato para la actividad bacteriana en el sedimento del humedal (Wetzel 1993, Perdomo et al. 1999, Peña et al. 1999).

3.4.1.3.1.1. El Efecto Kautsky

Mediante la emisión de fluorescencia se puede también llegar a establecer la distribución de la fracción de luz absorbida por el PSII que es disipada térmicamente, utilizada en el transporte de electrones o que es perdida en la oscuridad (Demmig et al. 1996).

La fluorescencia de la clorofila del PSII, entonces, podría funcionar como indicador de todos los niveles funcionales de la fotosíntesis y reacciones fotosintéticas de las plantas verdes.

Un gran número de estudios así lo han demostrado desde que Kautsky & Hirsch en 1931, descubrieron que esta emisión de fluorescencia presenta cambios característicos cuando una planta es sometida a iluminación luego de estar en la

oscuridad (Krause & Weis 1984), ya que curvas de emisión de fluorescencia de hojas previamente adaptadas a la oscuridad muestran que la emisión de fluorescencia varía en función del tiempo de manera bastante compleja. Este fenómeno se le ha denominado “Efecto Kautsky”, que es en sí, la relación entre la fluorescencia clorofílica (F_v/F_m) y la irradianza a través del tiempo, en plantas aclimatadas a la oscuridad.

Este efecto se realiza cuando una hoja es mantenida en la oscuridad, en que todos los componentes de la cadena transportadora de electrones se encuentran completamente oxidados, y es posteriormente irradiada con luz de medida, en el cual la fluorescencia aumenta rápidamente a un nivel inicial bajo (F_o) o fluorescencia inicial (ver Figura 6), característico de la apertura de los centros del PSII y la total oxidación del aceptor primario de electrones de este Fotosistema, el cual es la “quinona A” (QA) según Figueroa & Gómez (2001).

Posteriormente, mediante la aplicación de un pulso de luz saturante, como se observa en la misma Figura, la fluorescencia pasa por un nivel intermedio, a medida que la luz es absorbida y la separación de cargas tiene lugar, produciéndose un rápido cierre de los centros y la reducción de QA, aumentando la fluorescencia hasta un nivel máximo (fluorescencia máxima, F_m). Esto indica que QA se encuentra totalmente reducida. Al mantener luego una fuente de luz no saturante, los procesos fotosintéticos se activan, funcionando la cadena transportadora de electrones y la energía es usada en la reducción del CO_2 . Esto produce que la emisión de fluorescencia disminuya paulatinamente hasta llegar a un nivel de equilibrio (F_s) cercano a F_o (Kautsky & Hirsch 1931), el que está

relacionado con el inicio de la reducción del CO_2 en el ciclo de Calvin (Ireland et al. 1984).

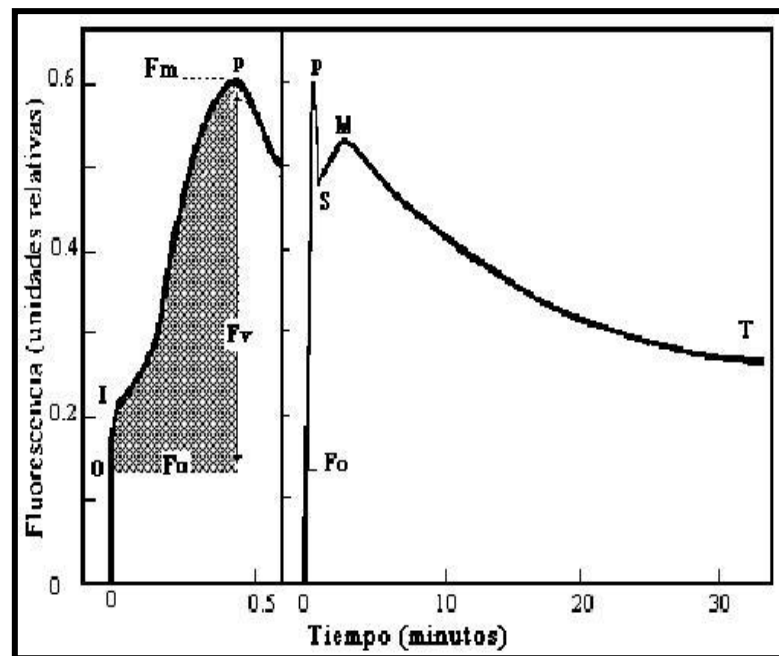


Figura 6. Efecto Kautsky: relación entre fluorescencia e irradianza solar (Fuente: Zúñiga 2004).

3.6.1.2.1. Nitrógeno Foliar

El nitrógeno es el elemento más abundante en los vegetales después del carbono, el hidrógeno y el oxígeno, ya que participa en los procesos de crecimiento como un componente estructural y funcional según Taiz & Zeiger (2006). Cuando hay deficiencias de él, muy seguramente el crecimiento de la planta se verá retardado, porque los procesos metabólicos se basan en la utilización de proteínas que son los que dirigen el aumento del crecimiento, cambios en el área foliar, así como su coloración, en la concentración y disposición de pigmentos fotosintéticos.

Cuando se utiliza el término “Nitrógeno foliar” esta haciendo referencia al nitrógeno contenido en la hoja que determina que tanto absorbe la planta por la raíz, por lo cual, es utilizado como indicador de la asimilación de nutrientes de la planta.

El suministro de Nitrógeno foliar sobre la fotosíntesis oscila en un 75%, lo que a conducido afirmar, según Evans (1989), que la relación nitrógeno-fotosíntesis puede ser variable por efecto del hábitat de la planta, y factores ambientales como la radiación y la temperatura. Aunque se ha reportado, que la correlación es positiva para muchas especies C3 y C4 según Field & Mooney (1986) y Evans (1989).

Si la planta al asimilar nitrógeno presenta limitación, las tasas fotosintéticas bajan por la reducción del contenido de la clorofila y en especial, la actividad de la Rubisco (Ribulosa bifosfato carboxilasa), a la que se invierte la mayoría del nitrógeno según Evans (1989).

3.7 Antecedentes

Se encontró varios estudios realizados, en cuanto al uso de Tratamientos de Sistemas de Humedales para la reutilización de aguas residuales, utilizando diferentes especies de plantas macrófitas, enfocadas al análisis del funcionamiento del sistema hidráulico del humedal, pero son escasas las investigaciones sobre las respuestas fisiológicas relacionadas con la disponibilidad de nutrientes en macrófitas acuáticas de ambientes tropicales y subtropicales en

sistemas de humedales, y más cuando se busca especies nativas novedosas que no han sido utilizadas en otras partes del mundo, como la especie *Heliconia psittacorum*, utilizada en esta investigación, en la que solo se encontró dos investigaciones que trabajaron con la especie en el mismo humedal. Por ello, se mencionarán aquellos trabajos que contribuyen a fundamentar esta investigación, estos son:

- “Evaluación de la capacidad de remoción de nitrógeno y sus relaciones fisiológicas en *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae) expuesta a una carga orgánica de agua residual en un humedal artificial sub-superficial para el tratamiento de aguas residuales en el Municipio de Ginebra – Valle (Martínez 2008)”. El objetivo de este estudio, es conocer la respuesta fisiológica involucrada en la transformación y asimilación de nitrógeno de plantas de la especie *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae) expuesta a una carga orgánica de agua residual de 5,2 m³/d y determinar su factible uso como planta fitoremediadora en el tratamiento natural de aguas residuales domesticas en humedales artificiales sub- superficiales. El desarrollo de este proyecto se dio a escala piloto, en la estación experimental de Acuavalle, en el Municipio de Ginebra, se diseño y se construyó un humedal artificial sub-superficiales por donde fluia el agua que llegaba de una laguna donde recibia las aguas residuales domesticas de la población. El humedal se diseño con tres sectores (c/u medía 3x3 m), uno, con un sembrado de heliconia, otro sembrado con phragmites y una unidad sin vegetación, para este trabajo solo se investigo la

capacidad de remoción de nitrógeno y sus relaciones fisiológicas bajo estas condiciones. En el humedal se distinguían tres zonas; entrada, media y salida, de cada zona se escogían al azar seis plantas y de cada planta dos hojas para hacer sus respectivas mediciones. Entre los meses de Noviembre de 2006 y junio de 2007 se llevaron a cabo la toma de datos semanales donde se registro el nitrógeno foliar, la fluorescencia y el potencial hídrico y el área folia. En el transcurso del muestreo se recogió en cinco ocasiones material vegetal con el que posteriormente se hicieron análisis de nitrógeno foliar por el Método de micro-kjeldahl en el laboratorio de fisicoquímicos del Instituto de Cinara ubicado en la Planta de Tratamiento de Puerto Mallarino. Al concluir la investigación se encontró que *Heliconia psittacorum* tiene una respuesta fisiológica normal ante este tipo de condiciones ambientales y que actualmente es muy poca la literatura que hay sobre ella. Para no ser una planta acuática presenta una buena aclimatación en estos sistemas de humedales para el tratamiento de aguas residuales. Las variables de fluorescencia y nitrógeno foliar no mostraron diferencias significativas entre las tres zonas, solo se encontraron diferencias significativas en el potencial hídrico.

- “Evaluación de las respuestas fisiológicas en *Heliconia psittacorum* expuesta a una carga hidráulica en un humedal artificial subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales domésticas en Ginebra-Valle (Prieto 2008)”. El objetivo de esta investigación consiste en utilizar la especie *Heliconia psittacorum* que se propone como una planta que puede ser utilizada para realizar procesos de fitorremediación, dadas sus características evaluadas y respuestas fisiológicas

estudiadas. Se realizó un estudio en la planta de tratamiento de aguas residuales domesticas en Ginebra (Valle), donde se construyó un humedal de tres por nueve metros que fue sometido a una carga de agua de 1,72 m³ día; el humedal se dividió en tres zonas: entrada, media y salida. En el humedal se sembraron plantas de la especie *H. psittacorum* con una densidad de seis plantas por m², se escogieron seis plantas por zona y dos hojas por planta para medir fluorescencia (fv/fm) y potencial hídrico (Ψ). Se correlacionaron los parámetros fisiológicos (fv/fm) y fisicoquímicos (DQO y DBO) sin encontrarse relación alguna entre ellos. Se realizaron dos podas, siendo la zona de salida la que mayor biomasa presentó. Para la estimación del nitrógeno foliar se tomaron tres hojas por zona; al principio, a la mitad y finalizando la carga, siendo las plantas de la zona de entrada las que mayor porcentaje de nitrógeno acumularon. No se encontraron diferencias significativas por zonas entre valores de fluorescencia ($p > 0,05$). No se encontraron diferencias significativas para zonas entre valores de potencial hídrico ($p > 0,05$). Para nitrógeno foliar (%N) no se encontraron diferencias significativas por fechas ($p > 0,05$). Se encontraron diferencias significativas para la zona de entrada y la zona media ($p < 0,05$).

- “Humedal subsuperficial de flujo vertical como sistema de depuración terciaria en el proceso de beneficiado de café”, es una investigación realizada por Cruz, et al. (2006). El objetivo de este trabajo, fue evaluar el humedal artificial subsuperficial de flujo vertical como tratamiento terciario, que trajo como consecuencia el conocimiento de sistemas de tratamientos convencionales y

no convencionales. Se evaluó el comportamiento de un humedal artificial, integrado por tres celdas unidas en paralelo, con área total de 300 m² y con pendiente hacia las salidas del 2%, como tratamiento terciario para aguas residuales provenientes de la combinación del agua de la población (350-450 habitantes), con el agua del lavado del beneficio húmedo de café ubicado en la Finca Argovia, en el municipio de Tapachula, Chiapas, México. En México, el uso de humedales artificiales no está muy extendido, encontrándose solo 20 prototipos de humedales artificiales subsuperficiales de flujo horizontal (HASSFH), en los estados de Oaxaca y Michoacán (Comisión Nacional del Agua, 2002). En Yucatán a nivel de microescala, se está trabajando con HASSFH para el tratamiento de agua residual porcícola; en la Trinitaria y en los Altos de Chiapas, se está utilizando HASSFH para el tratamiento de aguas porcícolas y de alberges para comunidades indígenas.

La captación se realizó a través de sedimentadores tipo Emscher y como punto intermedio se recibían en un tanque amortiguador, que distribuye automáticamente hacia dos reactores secuenciales por lotes que alimentan al humedal por ciclos de 8 horas mediante flujo discontinuo. Las especies vegetativas que se utilizaron son: *Saccharum spp*, *Panicum maximum*, *Vetiveria zizanoides*, *Heliconia psittacorum* y *Clorophytum conmutatum*. El medio poroso del humedal está constituido por capas de grava y arena de mar de 80 cm de espesor. El análisis estadístico, demostró eficiencias de remoción de 92 % de la demanda química de oxígeno, 95-96 % para coliformes fecales; el PH y la temperatura presentaron variaciones del 4-17 % y la conductividad

presentó mayor concentración debido a la disolución de las sales del medio poroso.

- “Construcción de humedales artificiales de flujo subsuperficial horizontal con *Phragmites karka* en la India central” (Billore et al. 1999). Se reportaron resultados, mostrando que un humedal artificial subsuperficial es un sistema de tratamiento costo-efectivo para el tratamiento de agua residual doméstica con base en la experiencia de una pequeña comunidad localizada en el área residencial de Ujjain, India Central. La unidad piloto se sembró con *Phragmites karka* y su funcionamiento después de cinco meses de operación mostró remociones de 78 % para NH_3 y SST. Entre tanto, las remociones de fósforo, DBO_5 y NTK estuvieron en un rango de 58 a 65% respectivamente. Por otra parte, Williams et al. (1999) mostraron el potencial de bioremediación de humedales artificiales subsuperficiales utilizados en el tratamiento de agua residual de la producción industrial de café en Colombia. Este sistema fue sembrado con *Typha angustifolia* en 1997 y mostró eficiencias de remoción de DBO_5 por encima del 90% y 4 unidades logarítmicas para indicadores de bacterias fecales durante el periodo de estudio. Basados en estos resultados los autores intentaron aplicar esta experiencia en otras regiones del país pero a la fecha no se conocen nuevos reportes sobre el tema. También se evaluó el funcionamiento de humedales artificiales sembrados con *Eichhornia crassipes* y *Typha latifolia*. Las mejores eficiencias tuvieron valores de 96% para DBO_5 , 93% para DQO, 95% para SST, 99% para $\text{NH}_4^+\text{-N}$ y 95% para $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$, respectivamente. Estos resultados muestran que los humedales artificiales

tienen un buen potencial para el tratamiento de aguas residuales en regiones tropicales. Sin embargo, en estas investigaciones no se evaluó el efecto del régimen hidrodinámico y el papel de las especies vegetales bajo condiciones variables de cargas hidráulica y orgánica y por ende su impacto en el funcionamiento y eficiencia el sistema.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los parámetros fisiológicos en *Heliconia psittacorum* expuesta a una carga orgánica de agua residual en un humedal subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales domésticas en el municipio de Ginebra (Valle del Cauca).

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Evaluar las respuestas del Potencial hídrico de *Heliconia psittacorum* en un humedal subsuperficial y su correlación con una carga orgánica residual aplicada.
2. Evaluar las respuestas en eficiencia fotosintética de *Heliconia psittacorum* en un humedal subsuperficial y su correlación con una carga orgánica residual aplicada.
3. Determinar el nivel promedio general de acumulación de Nitrógeno foliar de *Heliconia psittacorum* y la relación entre el Potencial hídrico y la Fluorescencia en un humedal subsuperficial.

4.3. HIPÓTESIS

1. H_a-Existen diferencias significativas del Potencial hídrico de *Heliconia psittacorum* entre las tres zonas definidas en el humedal subsuperficial con una carga orgánica residual aplicada y las fechas de muestreo.
2. H_a-Existen diferencias significativas en la Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* entre las tres zonas definidas en el humedal subsuperficial con una carga orgánica residual aplicada y las fechas de muestreo.
3. H_a-Existen diferencias significativas en el nivel promedio general de acumulación de Nitrógeno foliar de *Heliconia psittacorum* y la relación entre el Potencial hídrico y la Fluorescencia en un humedal subsuperficial.

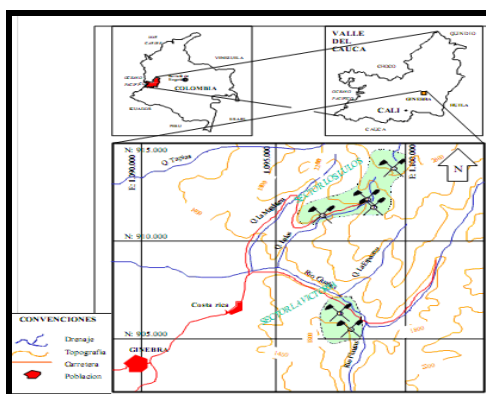
5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Zona de estudio

5.1.1. Región de estudio

La investigación de campo se realizó en el Municipio de Ginebra, Departamento del Valle del Cauca, ubicado en las coordenadas de 3°43'50" latitud norte y 76°16'20" latitud oeste. Ginebra limita al norte con Buga (Cuchilla de los Alpes), al sur con El Cerrito (Río Zabaletas), al oriente con Guacari (Ríos Guabitas y Puente Rojo) y al accidente con Buga y El Cerrito (Paramos de Los Domínguez y Pan de Azúcar) (Figura 7).

Se encuentra a una altura sobre el nivel del mar de 1.100 m.s.n.m, presentando una extensión territorial de 313 Km² con una temperatura aproximada de 22 C° y una población aproximada de 20.270 habitantes.



a)



b)

Figura 7. Ubicación del Municipio de Ginebra: a) El lugar de Ginebra en Colombia y en el Valle del Cauca (Fuente: Modificado de Londoño & Gelves 2002). b) Ginebra en el Valle del Cauca (Fuente: MUNICIPIO DE GINEBRA, <www.ginebra-valle.gov.co/sitio.shtml> consulta: 06 enero 2009).

5.1.2. Sitio de muestreo: Estación de Investigación y de Transferencia Tecnológica en Aguas Residuales.

El trabajo experimental se llevó a cabo en la Estación de Investigación y Transferencia de Tecnología en Tratamiento de Aguas Residuales y Re-uso, ubicada en el Municipio de Ginebra, Departamento del Valle del Cauca (Figura 8). La estación de investigación es operada en el marco de un convenio de cooperación con la empresa regional de agua, “La Sociedad de Acueductos y Alcantarillados del Valle (ACUAVALLE S.A. ESP.)”, desde el año de 1993. La razón de este convenio radicó en buscar posibles soluciones a los problemas de contaminación que el río cauca afrontaba por ser el efluente más importante de la región y el receptor final de las descargas de aguas de lluvias, residuales y domésticas e industriales, que esta empresa administra, opera y mantiene el 78% y el 69% de los servicios de acueducto y alcantarillado de los Municipios existentes del Valle del Cauca (SOCIEDAD DE ACUEDUCTOS Y ALCANTARILLADOS DEL VALLE, <www.acuavalle.gov.co/tratamiento.htm> consulta: 06 enero 2009).

Y es ya en el año de 1995, que Acuavalle, la Universidad del Valle y el Instituto Cinara, han venido desarrollando conjuntamente un espacio para la investigación y el desarrollo tecnológico en el área del manejo integral de las aguas residuales domésticas, que promueve el mejoramiento, la adaptación y el desarrollo de tecnologías de descontaminación, que permiten no solo el tratamiento de las aguas residuales sino la recuperación de nutrientes y el re-uso de subproductos como agua, gases y lodos.

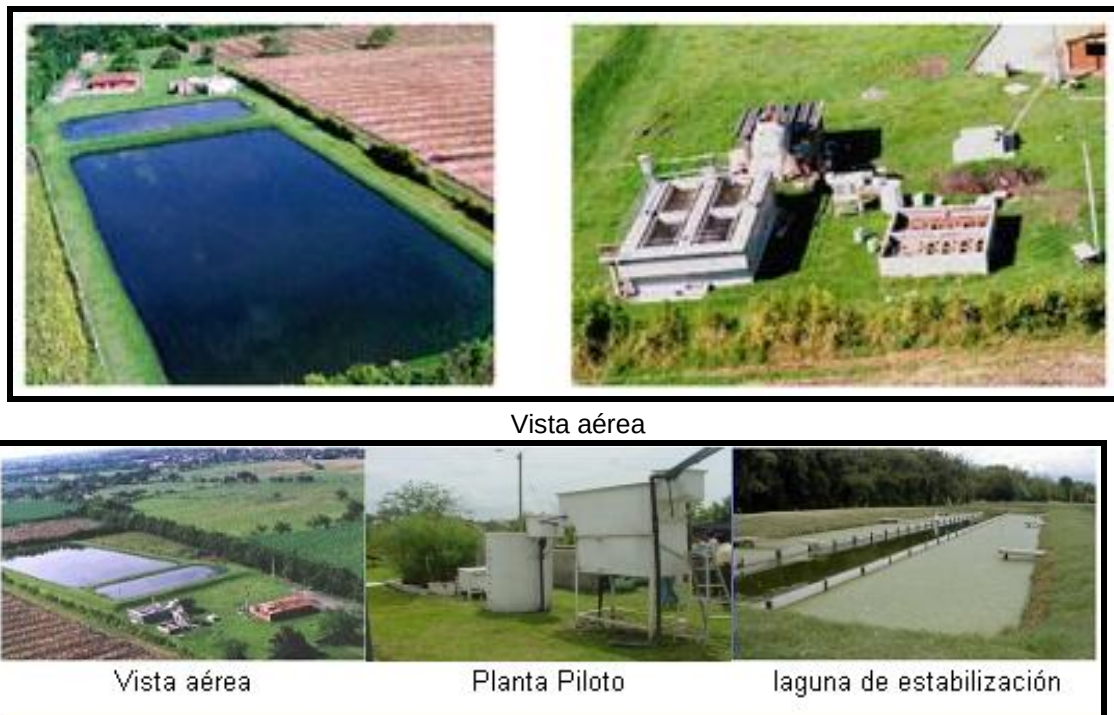


Figura 8. Estación de investigación y transferencias de tecnología en aguas residuales y reuso de Ginebra. (Fuente: ESTACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES, www.pisa.univalle.edu.co/public/index.php?seccion=estaciones&estacion=2 consulta: 06 enero 2009).

La planta de tratamiento de Aguas Residuales del Municipio de Ginebra se encuentra a 1.5 kilómetros del casco urbano, sobre la vía que conduce al corregimiento de Santa Helena. Posee una extensión de 3 hectáreas, trata un caudal de 25 l/s, y el caudal máximo de diseño de la estación es de 73.30 l/s, el cual es el caudal futuro para el año 2010.

La estación de investigación cuenta con tecnología a escala real (laguna anaerobia, laguna facultativa, laguna de maduración y reactor UASB), y con tecnología a escala piloto (tanque séptico, filtro anaerobio, humedales artificiales,

sistema de biodiscos, lagunas de *Lemna*, reactor compacto japonés y filtro percolador) (Figura 9), además de esto cuenta con un laboratorio para el análisis de muestras que son tomadas en diferentes sitios de la estación, en el que se realizan las siguientes pruebas: Demanda Biológica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), Sólidos Suspendedos Totales (SST), Sólidos Disueltos (SSV), Sólidos Sedimentales (S.SED), Sólidos Disueltos (S.DIS); Clorofila A, nitratos, nitritos, Fosfatos, alcalinidad, conductividad eléctrica, potencial redox, pH, oxígeno disuelto, Temperatura, sulfuros, Coliformes Fecales y huevos de helmintos (ESTACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES, <www.pisa.univalle.edu.co/public/index.php?seccion=estaciones&estacion=2> consulta: 06 enero 2009).

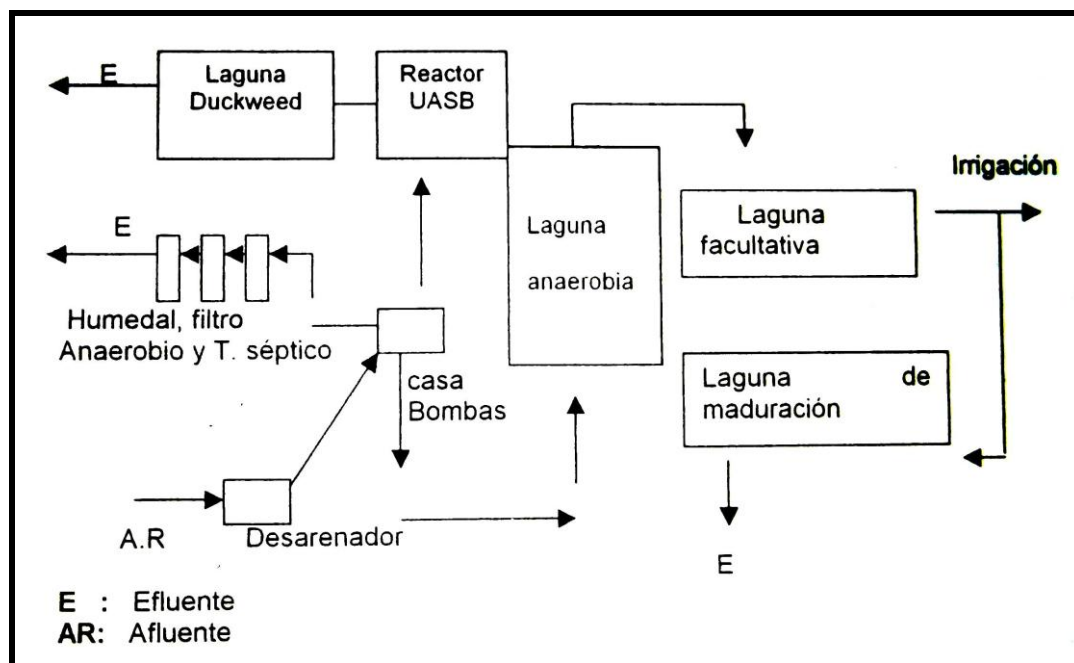


Figura 9. Esquema de la Planta Piloto de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Acuavalle. (Fuente: Botina 2001).

5.1.3. Diseño y descripción del Humedal Subsuperficial de la PTARD

El Sistema de Humedales Artificiales de la Planta de Tratamientos de Aguas Residuales cuenta con tres humedales de flujo subsuperficial que son utilizados como tratamiento terciario, el cual es alimentado con el afluyente de la laguna anaerobia. Estos humedales se encuentran ubicados en un bloque con dimensiones de 9x9 m, y se divide en tres subbloques que corresponden a los humedales subsuperficiales: dos, en el que son plantadas con *Heliconia psittacorum* y *Phragmites australis*, y ubicados a los extremos, y un tercero sin plantar, ubicado en la mitad, el cual sirve como control (Figura 10). Estos subbloques presentan un tamaño cada uno de 3x9 m respectivamente, con una densidad de siembra de 6 plantas por m². Cada área fue dividida en tres zonas para la toma de datos fisiológicos: zona de entrada del agua residual con la carga orgánica, la media y la de salida (Figura 11).



a)

b)

Figura 10. Vista de los Humedales Subsuperficiales: a) Vista general. b) Phrag: Humedal plantado con *Phragmites australis*; SV: humedal sin vegetación; Caa: columna de agua afluyente; Cae: columna de agua efluente; Hel: humedal plantado con *Heliconia psittacorum* (Fuente: Trinidad 2006).

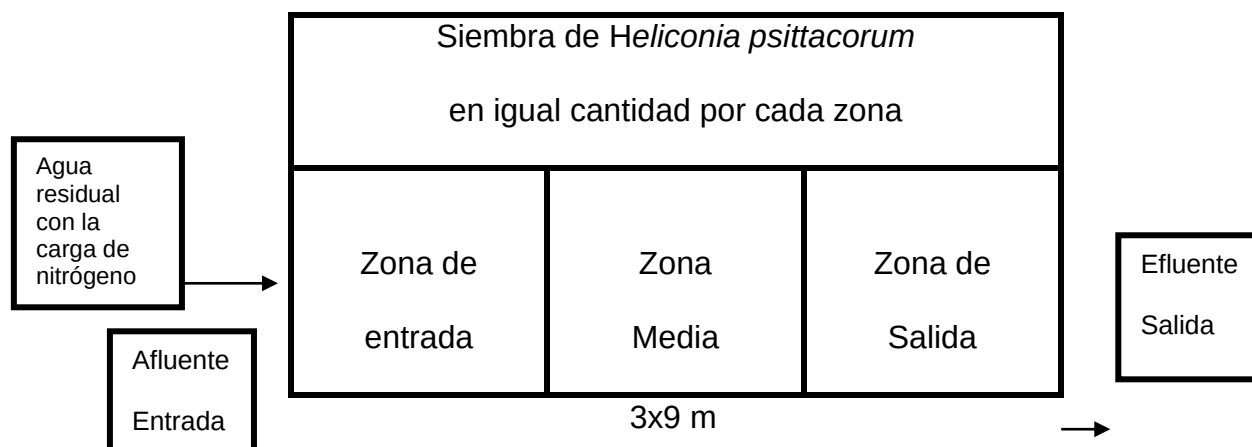


Figura 11. Representación Esquemática del Humedal Artificial Subsuperficial de *Heliconia psittacorum*.

Los humedales subsuperficiales fueron contruidos con las mismas condiciones, estas son (ver Figura 12): sin espejo de agua, con un sustrato de tres horizontes, el más profundo presenta 50 cm de grava gruesa, el intermedio 5 cm de grava pequeña, y el más superficial posee 5 cm de carbonilla, y se le aplico en la última etapa del proyecto una carga orgánica de 3.456 m³/d. En la Tabla 3, se muestra la composición de la carga orgánica aplicada al humedal subsuperficial al inicio como el registro de la carga de salida.

Tabla 3. Componentes de la carga orgánica aplicada al humedal subsuperficial.

Carga orgánica inicial (gr/m ² .día)	Carga orgánica de salida (gr/m ² .día)
DCO 16,5	DCO 4,48
DBO ₅ 10,7	DBO ₅ 2,72
NH ₄ ⁺ 3,79	NH ₄ ⁺ 3,1
PO ₄ ³⁻ 0,23	PO ₄ ³⁻ 0,19



Figura 12. Humedal Subsuperficial en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales ACUAVALLE. a) Afluente del humedal subsuperficial de *Heliconia psittacorum*. b) Efluente del humedal subsuperficial de *Heliconia psittacorum*.

5.2. Sinopsis biológica de la especie *Heliconia psittacorum*

5.2.1. Descripción general de las Heliconias

El genero heliconia, presenta de 225 a 250 especies en el mundo, y se encuentran distribuidas desde el Trópico de Cáncer hasta el Trópico de Capricornio, son propias en su mayoría de regiones tropicales y subtropicales de centro y Sudamérica, varias especies están distribuidas desde Indonesia hasta Nueva Guinea (HELICONIAS: FLORES EXÓTICAS DE COLOMBIA, <www.encolombia.com/economia/floriculturandina_heliconias.htm> Consulta: 2 febrero 2009).

El 98% de éstas se encuentran distribuidas en el centro y sur de América y en el Caribe, y 97 especies se encuentran distribuidas en Colombia aproximadamente en la región de la vertiente occidental andina, con el 35%; el Valle del río Atrato

con el 25%; las vertientes del río Magdalena con el 25% y la región Oriental Andina con el 25% (Kress 1994).

.
Las heliconias son plantas monocotiledóneas, con un crecimiento rizomatoso que emite brotes, o vástagos, de 70 cm a 10 metros de altura. Cada uno de estos esta compuesto por un tallo, técnicamente llamado pseudotallo; las hojas están compuestas por un pecíolo y una lamina, colocadas en posición dística. De acuerdo a la disposición de estas, se pueden identificar tres hábitos de crecimiento: musoide cuando las hojas están en posición vertical y con pecíolos muy largos; zingiberoide, con hojas en la mayoría de los casos séciles y dispuestas en forma mas o menos horizontal; y canoide cuando la hojas presentan pecíolos medianos y se disponen oblicuamente. Sus inflorescencias son hermafroditas pues poseen una parte masculina (estambres) y una femenina (pistilo) (JARDIN ENCYCLOPÉDIE. PLATANILLO HELICONIA PSITTACORUM, <www.plantencyclo.free.fr/sp/nmauric_heliconia_psittacorum_gg.html> consulta: 15 enero 2009).

Estas son de vital importancia ecológica, ya que debido a su crecimiento rizomatoso son aptas para contrarrestar los movimientos de tierra en las laderas erosionadas de barrancos. La gran mayoría de especies habitan regiones húmedas y lluviosas, pero algunas pocas se pueden hallar en zonas secas. Aunque la mayoría de Heliconias alcanzan su máximo esplendor vegetativo en las zonas bajas y húmedas de los trópicos, entre 200 y 2000 msnm, con una altitud ideal de 1500 msnm, y temperatura de 23 a 30 °C, en cuanto a la luminosidad, necesitan entre 30 y 40% de sombrío y humedad relativa de 60 y 80% según

Atehortúa (1998) y Builes & Maza (2000), y en los trópicos americanos, se ha encontrado que los Colibríes son los polinizadores exclusivos de las Heliconias rojas, amarillas, rosas y naranjas y los murciélagos que se alimentan de néctar son los polinizadores de las Heliconias verdes.

Las Heliconias, presentan los siguientes niveles nutricionales a nivel foliar (Tabla 4):

Tabla 4. Niveles nutricionales a nivel foliar de Heliconia sp. (HELICONIAS: FLORES EXÓTICAS DE COLOMBIA, <www.encolombia.com/economia/floriculturandina_heliconias.htm> Consulta: 2 febrero 2009).

Elemento	Rango	Rango superior
Nitrógeno (%)	3,1-3,8	>3,8
Fósforo (%)	0,2-0,4	>0,4
Potasio (%)	3,5-4,5	>4,5
Calcio (%)	1,26-1,75	>1,75
Magnesio (%)	0,26-0,8	>0,8
Azufre (%)	0,2-0,8	>0,8
Boro (ppm)	10-75	>75
Cobre (ppm)	6-25	>25
Hierro (ppm)	76-300	>300
Manganeso (ppm)	100-1000	>1000
Zinc (ppm)	25-250	>250

Las Heliconias son el único género en la familia de las Heliconiaceas, que es un miembro de un gran orden botánico llamado orden de los Zingiberales. Hay varias características que hacen de este, un orden de fácil reconocimiento, entre esas características podemos incluir las hojas largas y grandes inflorescencias de vistosos colores. La mayoría de taxónomos reconocen ocho familias en el orden de los Zingiberales , a saber: Musacea (los bananos y platanos), Strelitziacea (aves

del paraíso), Lowiaceae, Heliconiaceae (heliconias), Zingiberaceae (los gingers), Costaceae (Costus), Cannaceae (las cannas y chirillas) y Marantaceae (Las calateas) (HELICONIAS, <www.grancanariaweb.com/edgar/botanica/heliconia/> consulta: 31 enero 2009).

5.2.2. Descripción de *Heliconia psittacorum*

La unidad experimental de esta investigación es la especie *Heliconia psittacorum*, conocida con el nombre vulgar de “Platanillo”, la cual es una planta nativa de la familia Heliconiaceae, que tuvo su origen en las zonas tropicales húmedas de centro y Suramérica, caribe y florida (Figura 13). Esta presenta un crecimiento rápido con alturas de aproximadamente de 1 a 1.90 m, es erecta y vivaz, de rizoma serpenteante, con un follaje persistente, verde oscuro brillante más claro en el envés, largos pecíolos envainantes de 11 a 32 cm, grandes hojas alternas, estrechas, lanceoladas (1m x 20 cm) con nerviación marcada según (Kress 1994).



Figura 13. Planta *Heliconia psittacorum*, con todas las partes que la conforman (Fuente:<treetopstthomas.com/images/Heliconia.jpg> consulta: 01 febrero 2009).

La floración es durante todo el año, si las condiciones son las adecuadas, es nectarífera, y la polinización es hecha por colibríes. La inflorescencia es en espiga erecta formada por algunas brácteas alternas con forma en pico de loro, muy afiladas y largas (de 8 a 18 cm). Raquis flexuoso, anaranjado por lo general, y glabro a glauco. Espatas dísticas, 3-7 por inflorescencia, orientada 30 – 45°. Con flores tubulares, y de color rojo escarlata las brácteas, flores naranja con el extremo de los pétalos manchados de verde, y los frutos son drupas azules en la madurez (Figura 14). Con plantación en primavera, multiplicación por semillas o separación de vástagos, puede florecer desde el primer año, el sustrato debe ser rico, gumífero y húmedo, el emplazamiento debe ser en sol o semisombra, la temperatura mínima es de 15 °C, y es más tolerante a las variaciones bruscas de temperatura que otras heliconias (HELICONIAS: FLORES EXÓTICAS DE COLOMBIA, <www.encolombia.com/economia/floriculturandina_heliconias.htm> Consulta: 2 febrero 2009).



Figura 14. Flor de *Heliconia psittacorum* (Fuente: ANDROMEDA SALVADOR, <www.andromeda.cavehill.uwi.edu/Heliconia%20photos/Heli%20psit%20cul%206inch.JPG> consulta: 31 enero 2009).

5.2.3. Utilización de la unidad experimental

La especie *Heliconia psittacorum*, fue utilizada para ser plantada en el humedal subsuperficial, con una densidad de 6 plantas por metro cuadrado, dando un total de 130 plantas sembradas, que fueron donadas por la Licorera del Valle. A la hora de empezar los muestreos en la medición de los parámetros fisiológicos y orgánicos con la carga orgánica respectiva aplicada, fueron podadas y dejadas dos semanas para su aclimatación para que las heliconias se fijen al sustrato firmemente y se adapten al clima.

5.3. Condiciones experimentales

El proyecto se realizó a escala piloto durante cuatro meses (desde Agosto a Noviembre del 2007). A escala de campo se tomaron los datos en la madrugada de Fluorescencia y Potencial hídrico de seis plantas aleatoriamente en cada zona, y en cada una de ellas, se escogieron dos hojas en buen estado. También se tomaron al azar tres hojas por cada zona, las cuales fueron analizadas en laboratorio para la obtención de los datos de Nitrógeno foliar (figura 15).

A escala de laboratorio, se determinó el Nitrógeno foliar de tres hojas escogidas al azar en cada zona del humedal, mediante la aplicación del Método Kjeldhal en los laboratorios de Botánica del Departamento de Biología de la Universidad del Valle. Este método consiste en medir el nitrógeno contenido en el tejido de las hojas,

sometiendo a la muestra (hoja) a una maceración previa hasta convertirla en polvo, en donde se aplica tres procesos básicos: Digestión, Destilación, Titulación.

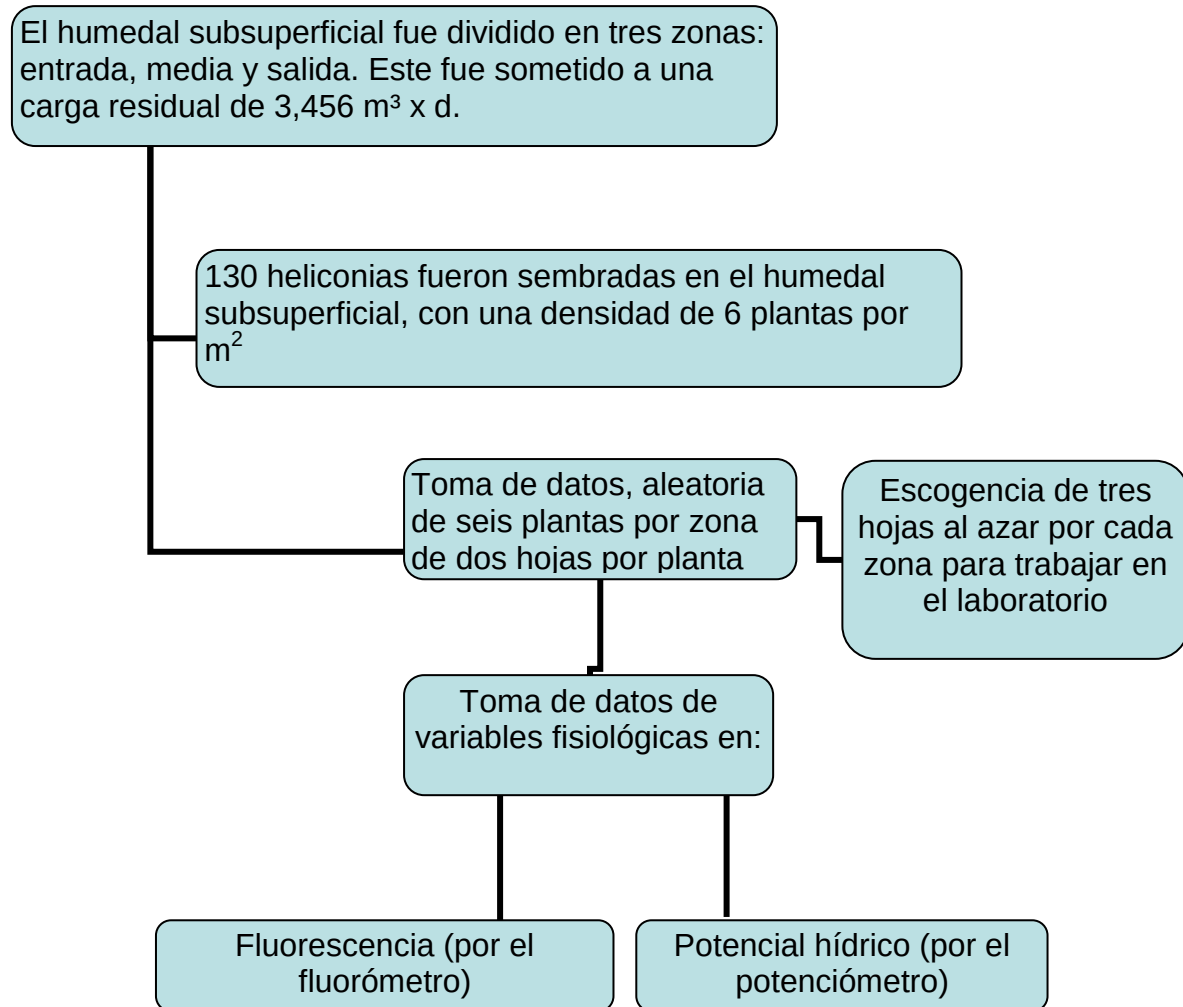


Figura 15. Procedimiento para el registro de datos a escala de campo en la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales Acuavalle.

5.4. Mediciones de Parámetros fisiológicos

Para analizar la actividad fotosintética (Fluorescencia) y la absorción hídrica en las raíces (Potencial Hídrico) de la planta *Heliconia psittacorum*, se tomaron registros por medio de los instrumentos de medición de dos hojas por cada planta de las

seis que se escogieron aleatoriamente en cada zona del humedal subsuperficial. Esta escogencia aleatoria se realizó dividiendo cada zona de 3x3 m en 9 segmentos de 1x1m, los cuales fueron enumerados y escogidos al azar, 6 de ellos en una urna. Estos datos fueron tomados en la madrugada de 4:00 a 6:00 am, con el fin de permitir la adaptación de las plantas a la oscuridad, y garantizar que todos los centros de reacción del PSII estuviesen abiertos (Krause & Weis 1991), y así poder obtener los respectivos registros de los parámetros fisiológicos.

5.4.1. Fluorescencia

La actividad fotosintética de la planta *Heliconia psittacorum*, es considerada como indicador fisiológico del metabolismo de la planta y de su participación en la transformación de las diferentes formas nitrogenadas en el sistema. Esta fue medida por el Fluorómetro marca Walz modelo MINIPALM-2002, mediante pulsos de luz en las hojas de la planta.

Los fluorómetros miden un determinado tipo de radiación que emiten algunas partículas al ser excitadas o irradiadas por una luz ultravioleta. Se utiliza para determinar la concentración de clorofila presente en una muestra de agua, ya que las células que tienen clorofila emiten fluorescencia. Las lecturas obtenidas son en voltaje, que luego se transforman a valores de concentración. La concentración de clorofila, da una idea de la concentración de fitoplancton, la base de la cadena

trófica planctónica, y es una medida imprescindible en los estudios de biología marina (Figura 16).



Figura 16. Fluorómetro marca Walz modelo MINIPALM-2002. (Fuente: EMPRESA WALZ, <www.walz.com/index.html> consulta: 01 febrero 2009).

5.4.2. Potencial Hídrico

Se determina las tasas de absorción hídrica por las raíces de las plantas mediante el registro del potencial hídrico como indicador del flujo iónico suelo-planta entre la afinidad de cada ion (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+) y la absorción por parte de la raíz (Kuschok & Arndt 2001), de dos pedazos pequeños cortados de las dos hojas de cada una de las seis plantas muestreadas por zona, por medio del aparato llamado microvoltímetro portátil Marca Psypro Wescor Modelo 120W que es un psicrómetro automatizado barato de potencial del agua de ocho-canales (Figura 17).

Los psicómetros miden el Potencial hídrico de tejidos y fragmentos de órganos. Este se determina midiendo el cambio de temperatura debido a la evaporización del agua de un pedazo de hoja de aproximadamente 1x2 cm, en una cámara hermética de material acerado con una tapa rosca, que posee un sensor que lo detecta en un lapso de cuarenta segundos. Las características de este instrumento, permiten: Proporcionar lecturas directamente en el MPa; Grabación automatizada para ocho sensores; Psicrómetro compatible de la reducción de la disposición y de datos de Windows y canales de entrada compatibles del compartimiento de la muestra de los ocho canales; y por último presenta, batería recargable para el campo extendido utilizando software controlado por menú, de uso fácil.



Figura 17. Microvoltímetro portátil Marca Psypro Wescor Modelo 120W
(Fuente:EMPRESA PSYPRO

<[images.google.com.co/imgres?imgurl=http://www.environmental-expert.com/files/1358/images/->](http://www.environmental-expert.com/files/1358/images/) consulta: 01 febrero 2009)

5.4.3. Nitrógeno Foliar

Con el objetivo de evaluar la remoción del promedio general de Nitrógeno foliar de la planta *Heliconia psittacorum*, se aplicó el Método Kjeldahl. Desde hace más de 100 años se está utilizando este método para la determinación del nitrógeno en una amplia gama de muestras. La determinación del Nitrógeno Kjeldahl se realiza en alimentos y bebidas, carne, piensos, cereales y forrajes para el cálculo del contenido en proteína, y también se utiliza para la determinación de nitrógeno en aguas residuales, suelos y otras muestras.

El método Kjeldahl sirve para determinar el contenido en nitrógeno en muestras orgánicas e inorgánicas, este se basa en la digestión de la muestra en ácido sulfúrico concentrado a ebullición, con la adición de un catalizador. La muestra se digiere hasta disolución y oxidación de la muestra. El nitrógeno contenido en la muestra se convierte en Amonio Sulfato. Añadiendo un exceso de solución de sodio hidróxido, el ion amonio es liberado en forma de amoniaco, destilado y recogido sobre una solución de ácido bórico o sobre una solución valorada de ácido sulfúrico. El amoniaco recogido es determinado con una solución valorada de ácido o se valora por retroceso con solución de sodio hidróxido de concentración conocida, si se recogió sobre ácido sulfúrico.

Las ventajas de la utilización del Método de Kjeldhal, consiste en ser apropiado para varios tipos de productos, alta fiabilidad y usado como método de referencia. Y las desventajas del método de Kjeldhal, es que interfieren compuestos

nitrogenados no proteicos, uso de catalizadores tóxicos o caros y elección del factor de conversión.

En el presente proyecto se aplicó el Método Kjeldhal a tres hojas de cada zona tomadas al azar, en las últimas cuatro salidas efectuadas, para un total de 36 registros por humedal. Las hojas fueron transportadas al Laboratorio de Botánica del Departamento de Biología de la Universidad del Valle, en el que fueron secadas a temperatura ambiente y posteriormente maceradas con un mortero hasta convertirlas en polvo. Y luego se procedió a realizar el método químico, tal como lo explica la Figura 18.

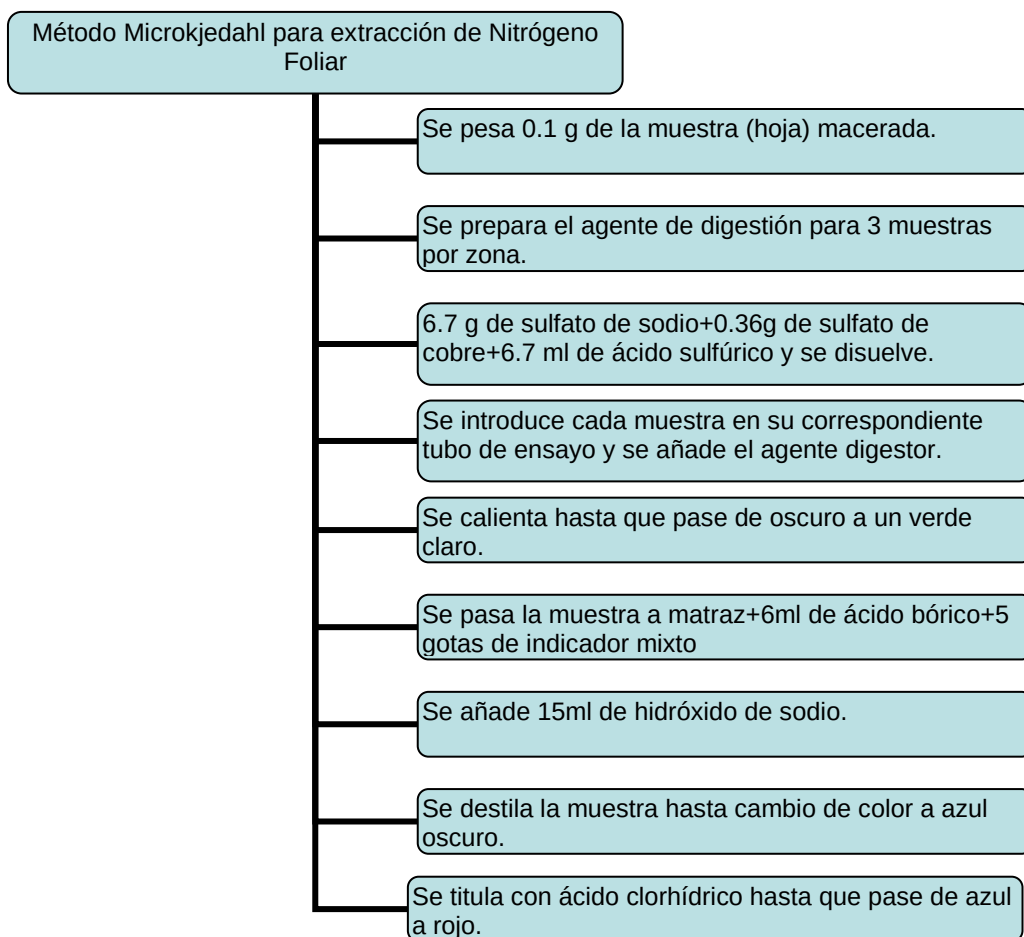


Figura 18. Método Kjeldhal a escala de laboratorio.

5.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa “Statistica, versión 7”. El diseño experimental que más se ajusta al presente proyecto, es un Anova Factorial con Suma de Cuadrados Tipo II. La suma de cuadrados se emplea con el fin de efectuar una descomposición de la variabilidad total atribuible a la variable respuesta Y, en este caso Fluorescencia y Potencial Hídrico, en los diferentes componentes o factores controlados o manipulados por el investigador como lo son, las Fechas y las Zonas en este estudio, y la adición del error experimental, que constituye la fuente de variación que aglutina a todos los componentes no controlados dentro del modelo de clasificación experimental (Restrepo 2007). Como se tomaron muestras aleatoriamente en seis individuos de cada zona en cada salida y no a los mismo individuos, se presenta un error de muestra, y el objetivo en todo diseño experimental es minimizar la suma de cuadrados del error, con el fin de poder maximizar el rechazo de la hipótesis nula, y así establecer divergencia en el efecto de los tratamientos (Restrepo 2007), por ello, se optó por realizar este diseño experimental con suma de cuadrados tipo II que minimiza el error de muestra.

El diseño presenta dos factores a evaluar, los cuales son: las zonas con tres niveles: Entrada, Media, Salida; y las Fechas con seis niveles: Fecha 1=23/08/07; Fecha 2=30/08/07; Fecha 3=05/09/07; Fecha 4=15/09/07; Fecha 5=20/10/07; Fecha 6=08/11/07. Dando la combinación de los niveles de los dos factores un total de 18 tratamientos. Se tomaron datos de tres variables, las cuales son: Fluorescencia, Potencial Hídrico y Nitrógeno foliar. De las tres variables, solo dos

fueron analizadas, aplicando el diseño experimental: Fluorescencia y Potencial Hídrico; y el Nitrógeno Foliar solo se realizó un análisis descriptivo, ya que solo se tomaron pocos datos en las últimas cuatro salidas, lo que permite ser tomados como datos preliminares para continuar una investigación.

Los datos obtenidos de Potencial hídrico y Fluorescencia fueron transformados, tornando las medias y las varianzas individuales independientes y estables con las funciones algebraicas sugeridas por la literatura, las cuales son: para el Potencial hídrico " $x-1$ ", en donde se eliminaron tres datos extremos de los siguientes tratamientos: Tratamiento # 2, dato: 1,52, en la ubicación Fecha 1, zona media, planta 1; Tratamiento # 8, dato 1,315, en la ubicación Fecha 3, zona media, planta 3; Tratamiento # 16, dato 2,22, en la ubicación Fecha 6, zona de entrada, planta 6. Y para la Fluorescencia la transformación fue " $\text{Log}(x+10)$ ".

Estos datos transformados cumplieron los supuestos de "Homogeneidad de varianzas" con la prueba de "Cochran, Hartley, y Bartlett" y "Normalidad" con la prueba de "Kolmogorov Smirnov & Lilliefors", lo que permitió evaluar cada una de las hipótesis planteadas, y el rechazo de ellas en la presente investigación, por medio de la aplicación del Análisis de Varianza Anova Paramétrica tipo II de descomposición, Pos-Anova con la prueba de "Tukey" y el Análisis Descriptivo de la media, rango mínimo y máximo, y desviación estándar, en tablas y graficas con diagramas de cajas (Box Plot) que compara tratamientos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Comportamiento del Potencial Hídrico

Se cumplió los supuestos de “Homogeneidad de varianzas” con un $P > 0,159024$, y de “Normalidad” con un $p > 0.20$, lo cual indica que los tratamientos tienen la misma varianza, y los datos siguen una distribución normal.

En la Tabla 5, se presenta el análisis descriptivo de los datos reales del Potencial hídrico. Estos oscilaron entre -0,14 Mpa a -1,75, Mpa, con un promedio de -0,915 Mpa, lo cual indica que las plantas no han sido sometidas a estrés hídrico, ya que según Taiz & Zeiger (2006), estos rangos del Potencial Hídrico son normales en las plantas sanas, y muy posiblemente su aclimatación en el humedal se dio positivamente, puesto que los ambientes naturales de *Heliconia Psittacorum* son de bosques húmedos (Prieto 2008),

Tabla 5. Estadística descriptiva del Potencial Hídrico

ESTADISTICA DESCRIPTIVA (POTENCIAL HIDRICO)					
	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.
POTENCIAL HÍDRICO	105	0,91514	0,145000	1,725000	0,321831
		3			

En la Figura 19, se muestra el comportamiento del Potencial Hídrico en general a través de las seis fechas muestreadas. Se encontró que la Fecha 6, registró una

marcada diferencia a comparación de las demás Fechas. Lo que indica que probablemente *Heliconia psittacorum*, no presentó estrés hídrico.

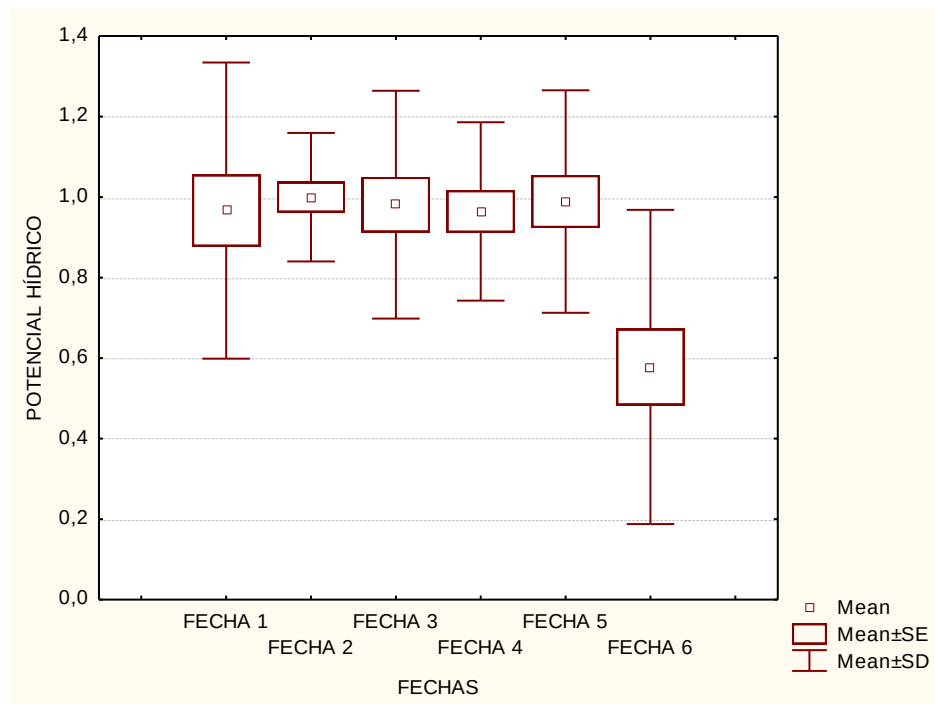
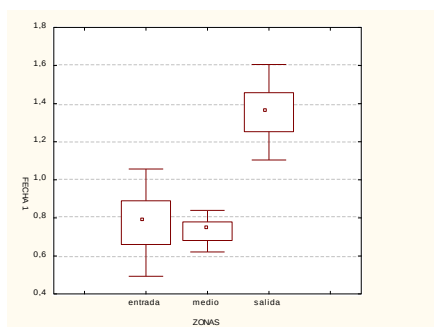


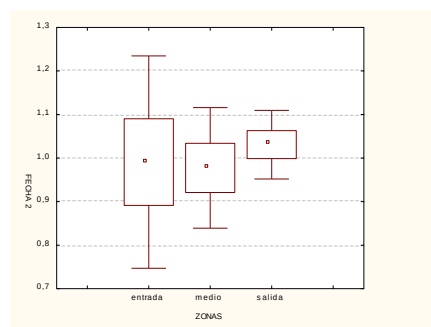
Figura 19. Potencial hídrico de *Heliconia psittacorum* durante las fechas de muestreo.

En la Figura 20, se muestra el comportamiento que tuvo el Potencial Hídrico en cada fecha de muestreo en las tres zonas del humedal subsuperficial. En la gráfica A, se encontró variación en la Fecha 1, a la zona de salida, en comparación de las otras dos zonas. En la gráfica B, se observa la variación en la zona de entrada con una alta dispersión en la Fecha 2. En la gráfica C, se muestra diferencia en la zona media a comparación de las otras dos que tuvieron una similar dispersión en la Fecha 3. En la gráfica D, se encuentra que hay variación en la zona de salida a diferencia de las otras dos zonas. En la gráfica E, se observa que existe variación en la zona de entrada en la Fecha 5. Y por último, encontramos que en la gráfica

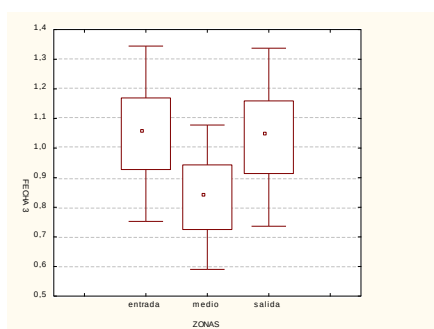
F, existe una marcada diferencia en la zona de entrada a comparación de las otras dos zonas, lo que propicia suponer, que es en esta variación que se observa una diferencia entre las Fechas muestreadas y esta Fecha en especial.



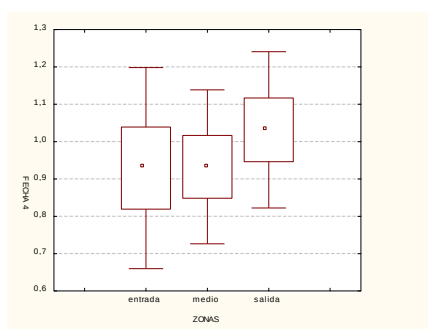
A)



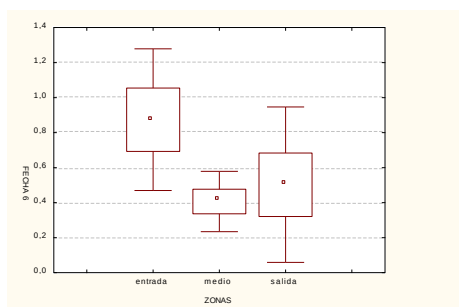
B)



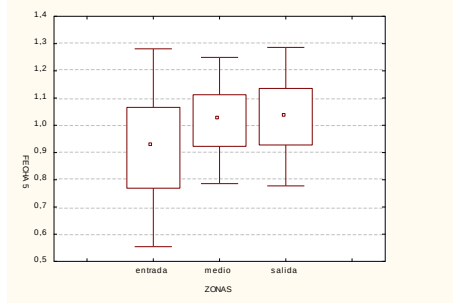
C)



D)



E)



F)

Figura 20. Comportamiento del Potencial hídrico de *Heliconia psittacorum* en cada fecha de muestreo a través de las zonas del humedal. A) Fecha 1 Vs Zonas; B) Fecha 2 Vs Zonas; C) Fecha 3 Vs Zonas; D) Fecha 4 Vs Zonas; E) Fecha 5 Vs Zonas; F) Fecha 6 Vs Zonas.

El comportamiento del Potencial Hídrico a través de las tres zonas del humedal, se muestra en la Figura 21. Se encontró variación entre las zonas de entrada, media y salida. Estas diferencias en el Potencial Hídrico, se debe a la disminución de la concentración de la carga orgánica aplicada desde la zona de entrada, pasando por la media y la salida.

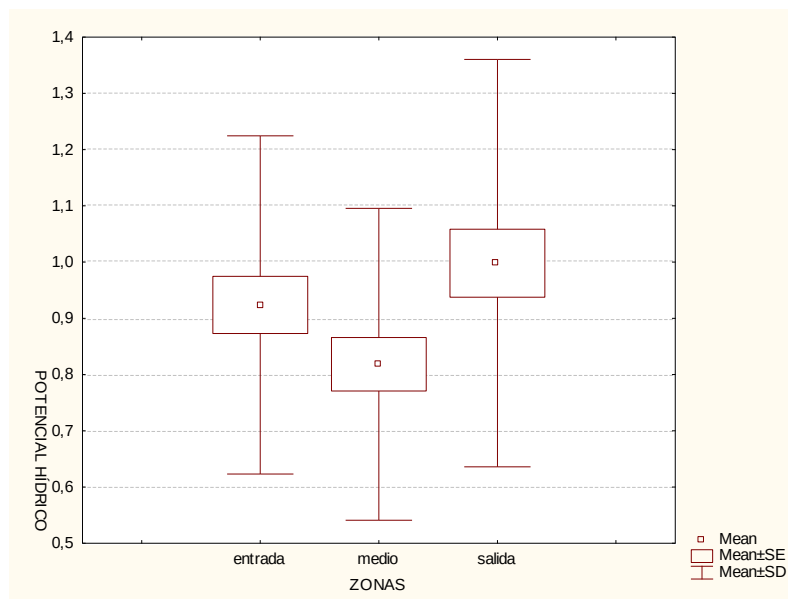
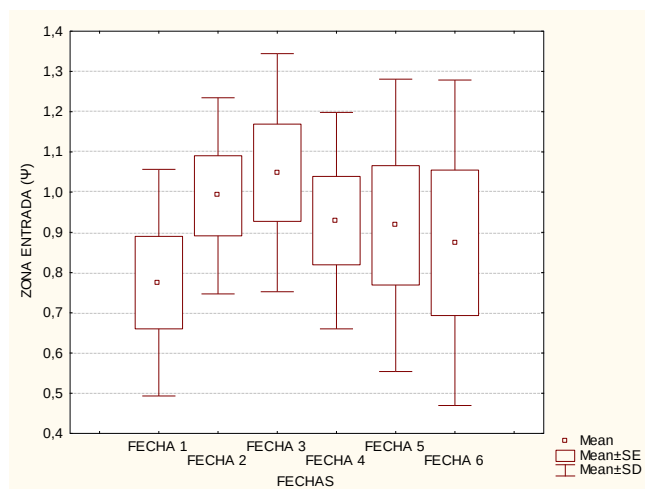
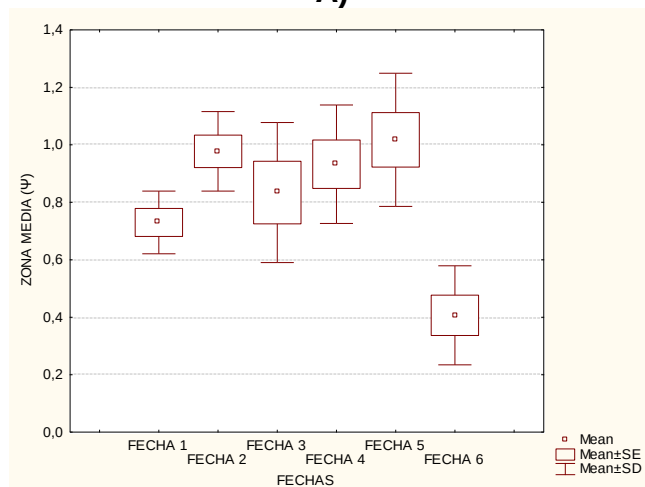


Figura 21. Potencial hídrico de *Heliconia psittacorum* en las tres zonas del humedal.

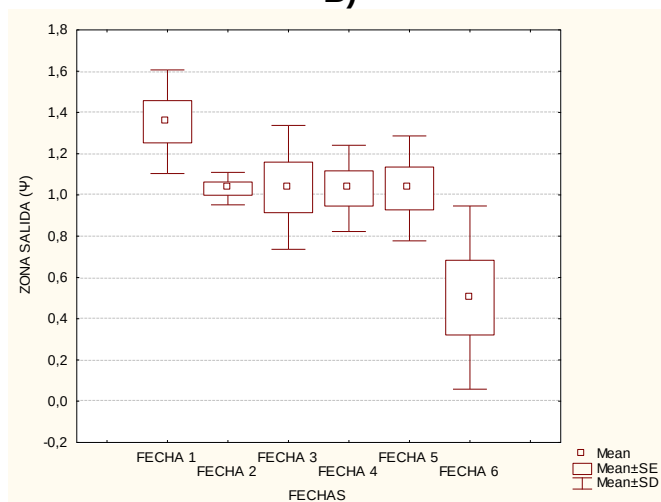
No solo se encontró diferencias entre las zonas del humedal sino también en cada zona, como se observa en la Figura 22, en la que se muestra específicamente las variaciones que ocurren en el Potencial Hídrico en cada zona a través de las seis fechas de muestreo. En la gráfica A, se encontró variación en la zona de entrada, en todas las fechas de muestreo, concretamente en las Fechas 1, 5, y 6 a comparación de las Fechas 2, 3 y 4 que tuvieron un rango similar de dispersión. Y por último, en la gráfica B y C, se observa variación en las Fechas 1 y 6.



A)



B)



C)

Figura 22. Comportamiento del Potencial hídrico de *Heliconia psittacorum* en cada zona del humedal a través de las fechas de muestreo. A) Zona de entrada Vs Fechas; B) Zona media Vs Fechas; C) Zona de salida Vs Fechas.

En la Tabla 6, se muestra el Análisis de varianza (Anova). Se encontró que existe efectos con un nivel de significancia $P < 0,05$ en las siguientes fuentes de variabilidad: Fechas ($P = 0,000035$), Zonas ($P = 0,025148$) y la Interacción entre fechas y zonas ($P = 0,011137$). Esto indica en general que el factor de fechas en sus seis niveles, las zonas en sus tres niveles y la interacción entre estos dos factores, sí presentó efectos en los tratamientos del Potencial Hídrico.

Tabla 6. Análisis de varianzas (Anova) del Potencial Hídrico.

ANOVA FACTORIAL PARAMETRICA CON TIPO II DESCOMPOSICIÓN					
(POTENCIAL HÍDRICO)					
Fuentes de variabilidad	SS	Degr. Of	MS	F	P
INTERCEPTO	87,93608	1	87,93608	1244,873	0,000000
FECHAS	2,29682	5	0,45936	6,503	0,000035
ZONAS	0,54298	2	0,27149	3,843	0,025148
FECHAS Y ZONAS	1,76097	10	0,17610	2,493	0,011137
ERROR	6,14556	87	0,07064		

Se aplicó la Pos-Anova con la prueba de Tukey, que compara las diferencias entre medias muestrales con el valor de significancia de $P < 0.05$. En la Tabla 7, se muestra las diferencias en el comportamiento del Potencial Hídrico de *Heliconia psittacorum* a través de las Fechas de muestreo, lo que indica que existe diferencia en la Fecha 6, a comparación de las demás Fechas. Esta diferencia, se pudo presentar por tres causas: 1) error experimental, porque el muestro de las

Fechas 5 y 6, se realizó con una diferencia de tiempo bastante largo a comparación de las anteriores Fechas, 2) la planta tuvo que enfrentar un estrés externo que ocasionó que ella respondiera inmediatamente, o 3) las plantas ya comenzaron hacer afectadas con el tiempo por la carga orgánica aplicada de $3,456 \text{ m}^3/\text{d}$ al humedal subsuperficial. Pero como esta dos últimas causas no puede comprobarse, ya que se deben realizar más tomas de muestras, para verificar si las plantas presentan ese comportamiento con el tiempo, se opta por la primera.

Tabla 7. Diferencias del comportamiento del Potencial Hídrico de *Heliconia psittacorum* entre las seis Fechas de muestreo.

PRUEBA DE TUKEY= PRUEBA POST HOC ERROR: BETWEEN MS = ,07064, df = 87,000

(POTENCIAL HÍDRICO)

	FECHAS	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	FECHA 1		0,999125	0,999986	1,000000	0,999878	0,000816
2	FECHA 2	0,999125		0,999952	0,998733	0,999996	0,000259
3	FECHA 3	0,999986	0,999952		0,999971	0,999999	0,000508
4	FECHA 4	1,000000	0,998733	0,999971		0,999799	0,000727
5	FECHA 5	0,999878	0,999996	0,999999	0,999799		0,000346
6	FECHA 6	0,000816	0,000259	0,000508	0,000727	0,000346	

Por lo tanto, la especie *Heliconia psittacorum*, es una especie tolerante por aclimatarse en un ambiente artificial con condiciones diferentes a su hábitat

natural, en el que se ha aplicado una carga orgánica de agua residual, y la ha asimilado positivamente a través del continuo suelo-planta-atmósfera, sin presentar variaciones en el potencial hídrico, el cual es, un indicador del estado hídrico de la planta. Durante el proceso de la fotosíntesis, los gradientes de presión del agua, transportan desde las hojas hacia las raíces, el oxígeno, creando gradientes negativos, que permiten la asimilación de nutrientes y agua, y a su vez el proceso de intercambio de gases desde los estomas esta influenciado por estos potenciales hídricos, y en particular la componente de presión o turgor celular, que permite la apertura o cierre de estos, y cuyos cambios en el balance hídrico celular constituyen una de las causas principales de las alteraciones en la fotosíntesis y en el crecimiento de la planta (Hanson & Hitze 1982).

Se infiere que *Heliconia psittacorum*, no tuvo que sufrir tensiones hídricas hoja-raíz elevadas, que pudiesen ocasionar que parte del xilema quedase inoperante, porque se hubiese producido, la cavitación o embolismo, que consiste en la ruptura de la columna continua de agua en el xilema, que trae como consecuencia que la conductividad hídrica se redujera (Reignosa et al. 2004), ya que está especie es tolerante ante las condiciones sometidas en el humedal, y que al parecer, según su comportamiento, presenta el fenómeno conocido según Lichtenthaler (1998), como “eu-estrés”, el cual consiste en un estrés suave y estimulante -en este caso la carga orgánica de agua residual que presenta una alta concentración de nitrógeno-, que activa el metabolismo celular e incrementa la actividad fisiológica de ella, lo que termina siendo, un elemento positivo y una fuerza impulsadora de su crecimiento vegetal.

En la Tabla 8, se muestra las diferencias encontradas en la Pos-Anova, del comportamiento del Potencial Hídrico de *Heliconia psittacorum* a través de las tres zonas del humedal subsuperficial: entrada, media y salida. Encontrándose diferencias entre la zona media (2) y salida (3), mientras que en la zona de entrada (1) con las otras dos zonas no mostró diferencias.

Tabla 8. Diferencias del comportamiento del Potencial Hídrico de *Heliconia psittacorum* entre las zonas del humedal subsuperficial.

PRUEBA DE TUKEY= PRUEBA POST HOC ERROR: BETWEEN MS = ,07064, df = 87,000 (POTENCIAL HÍDRICO)				
	ZONAS	{1}	{2}	{3}
1	Entrada		0,231310	0,470654
2	Medio	0,231310		0,016035
3	Salida	0,470654	0,016035	

En la interacción entre las Fechas y las Zonas de los 18 tratamientos, se presentó diferencias, estas son: en la Fecha 1 se presentó concretamente diferencias en la Zona de entrada con la Zona de salida, y en la Zona media con la Zona de salida. Y en la Fecha 6 se presentó diferencias con todas las demás fechas de muestreo, como lo es en la Fecha 6, zona media con la Fecha 1, Zona de salida; la Fecha 6, Zona de salida con la Fecha 1, Zona de salida; la Fecha 6, Zona media con la Fecha 2, Zona de entrada; la Fecha 6, Zona media con la Fecha 2, Zona media; la

Fecha 6, Zona media con la Fecha 2, Zona de salida; la Fecha 6, Zona media con la Fecha 3, Zona de entrada; la Fecha 6, Zona media con la Fecha 3, Zona media; la Fecha 6, Zona media con la Fecha 3, Zona de salida; la Fecha 6, Zona media con la Fecha 4, Zona de salida; la Fecha 6, Zona media con la Fecha 5, Zona media; y por último, la Fecha 6, Zona media con la Fecha 5, Zona de salida. Estos resultados obtenidos, corroboran y afianzan, los argumentos expuestos hasta el momento, en donde la Fecha 6 fue la que presentó realmente variación con las demás Fechas.

Estos resultados, sugieren que la carga orgánica de agua residual aplicada al humedal desde la zona de entrada con un flujo de agua acompañado de una alta concentración de materia orgánica y disponibilidad de nitrógeno, fue recibida y asimilada positivamente por las plantas (ver Tabla 3), las cuales presentaron un crecimiento alto de aproximadamente dos metros de altura, con un endurecimiento en sus partes y color de hojas verde oscuro, según las observaciones hechas en el campo. En la zona media, el flujo de la concentración de la carga orgánica es un poco menor, y se observó que las plantas eran casi igual al crecimiento alto de las plantas de la zona de entrada, lo que posiblemente ocasiona, que no exista variación entre esas dos zonas. Ya en la zona de salida sí se registra diferencias con la zona media, ya que al parecer el flujo de la carga orgánica presenta una menor concentración, lo que compensa con las observaciones tomadas en el campo sobre estas plantas, que presentaron un crecimiento muy bajo y poco endurecimiento de sus partes. El crecimiento de las plantas, es un indicador positivo de respuesta de la planta a las condiciones sometidas, ya que el

crecimiento foliar se reconoce como el proceso de desarrollo más vulnerable al déficit hídrico, según Hsiao (1973) y Levitt (1980), citado por Reignosa et al. (2004).

La hipótesis nula planteada, en la cual no existen diferencias significativas del Potencial hídrico entre las tres zonas definidas en el humedal subsuperficial con la carga orgánica residual aplicada y las fechas de muestreo, es rechazada, ya que los resultados muestran que si existen diferencias.

6.2. Comportamiento de la Fluorescencia

Se cumplió los supuestos de “Homogeneidad de varianzas” con un $P=0,371461$, y de “Normalidad” con un $p > 0.20$, lo cual indica que los tratamientos tienen la misma varianza, y los datos siguen una distribución normal.

El análisis descriptivo de los datos reales de Fluorescencia, se presenta en la Tabla 9, en el que muestra que la Fluorescencia oscilo entre 0,59 a 0,88, y su promedio fue de 0,78. Se presentó algunas variaciones en la Fluorescencia, ya que los valores normales de ella, se encuentran entre 0,8 y 0,83, según Peña (2007), citado de Martínez (2008). Lo que indica, que esta especie se encuentra en un ecotono que no es común para ella, pues esta no crece frecuentemente en ambientes inundados -en este caso, contruidos artificialmente-, como si lo hacen otras macrófitas según Martínez (2008). Y también pudo haber influido en estas variaciones, factores ambientales como las lluvias, en el que la estacionalidad de

ellas y las temperaturas, afectan la fotosíntesis en las plantas, según Arroyo et al. (1981) y Olivares & Squeo (1999), citado por Prieto (2008).

Tabla 9. Estadística descriptiva de la Fluorescencia.

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA (FLUORESCENCIA)					
	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.
FLUORESCENCIA	108	0,781171	0,595279	0,885003	0,051005

En la Figura 23, se muestra el comportamiento de la Fluorescencia a través de las seis fechas muestreadas. Se encontró que la Fecha 5, presentó variación a comparación de las demás Fechas.

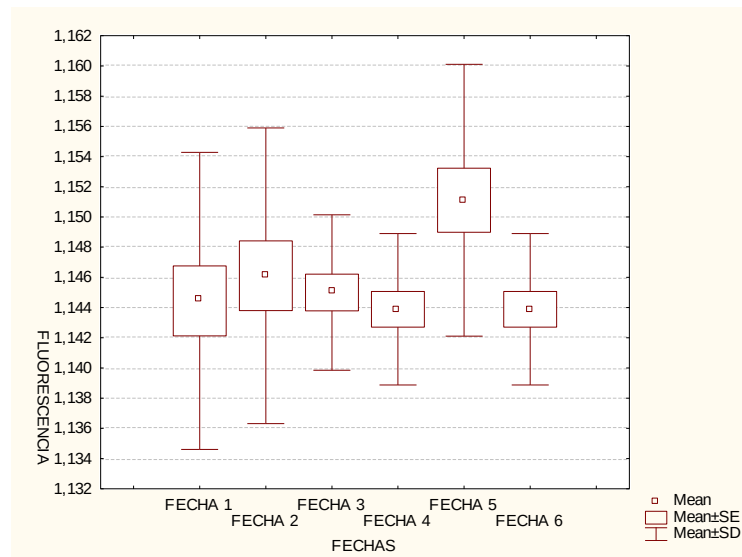


FIGURA 23. Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* durante las fechas de muestreo.

En la Figura 24, se detalla las variaciones que ocurren en la Fluorescencia en cada Zona a través de las seis Fechas de muestreo. En la Fecha 5, tuvo variaciones en cada zona del humedal. En la gráfica A, se encontró variación, de la zona de entrada en la Fecha 5. En la gráfica B, se observa variación en la Fecha 2 y 5. Y en la gráfica C, se encontró diferencias entre las Fechas 1 y 5.

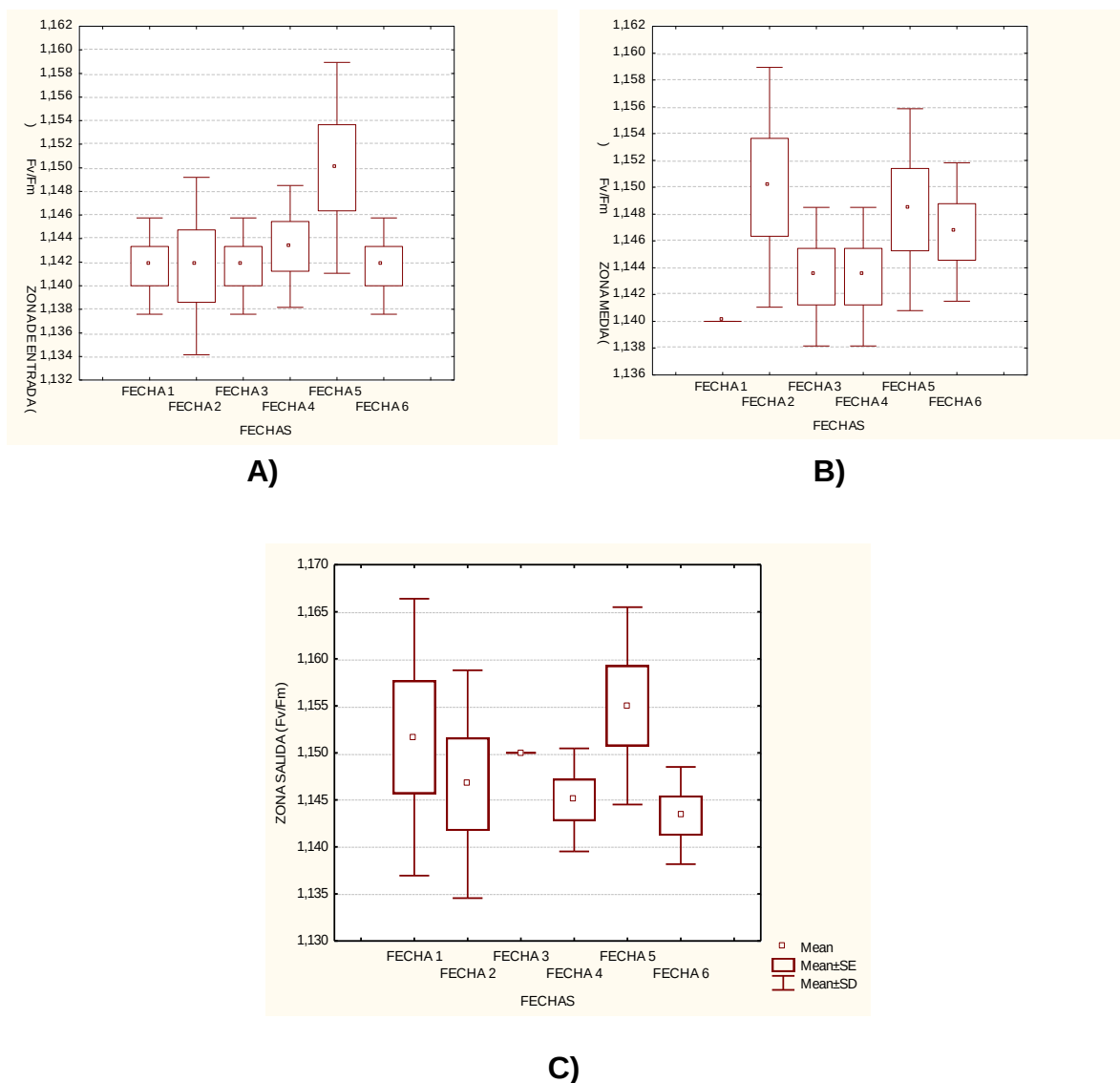


Figura 24. Comportamiento de la Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* en cada zona del humedal a través de las fechas de muestreo. A) Zona de entrada Vs Fechas; B) Zona media Vs Fechas; C) Zona de salida Vs Fechas.

El comportamiento de la Fluorescencia a través de las tres zonas del humedal muestreadas, se presenta en la Figura 25. Encontrando variación entre las zonas de entrada, media y salida, especialmente en la zona de salida, con una mayor dispersión a comparación de las otras dos zonas.

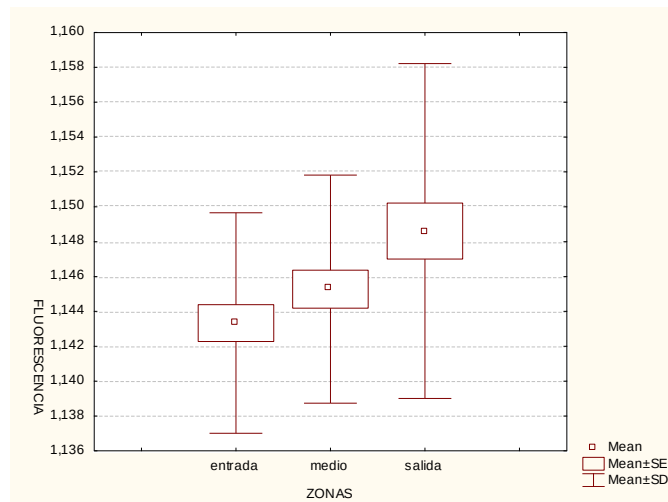
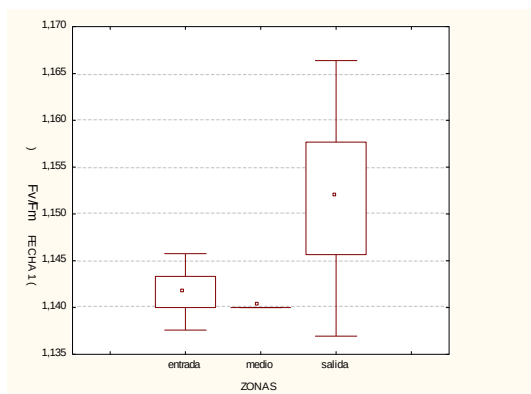


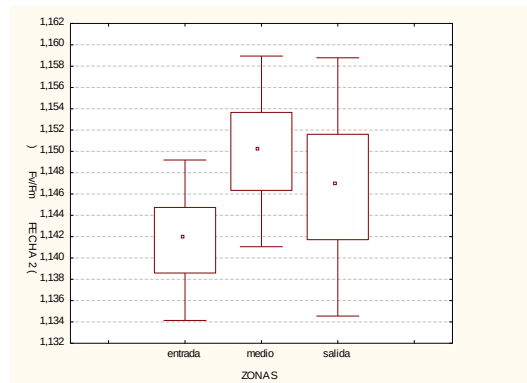
Figura 25. Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* en las tres zonas del humedal.

El comportamiento que tuvo la Fluorescencia en cada fecha de muestreo en las tres zonas del humedal subsuperficial, se muestra en la Figura 26. En la gráfica A, se encontró variación en la Fecha 1, a la zona de salida en comparación de las otras dos zonas. En la gráfica B, se observa la variación en las tres zonas del humedal, en especial la zona de entrada en la Fecha 2. En la gráfica C, se muestra la diferencia entre las tres zonas del humedal en la Fecha 3. En la gráfica D, se encuentra que no hay variación entre las zonas de entrada y media, pero si en la zona de salida del humedal en la Fecha 4. En la gráfica E, se observa que existe poca variación en la zona de entrada y media, pero en la zona de salida, si se presentó diferencias a comparación de las otras dos zonas en la Fecha 5. Y por último, encontramos que en la gráfica F, existe diferencias entre las tres zonas del

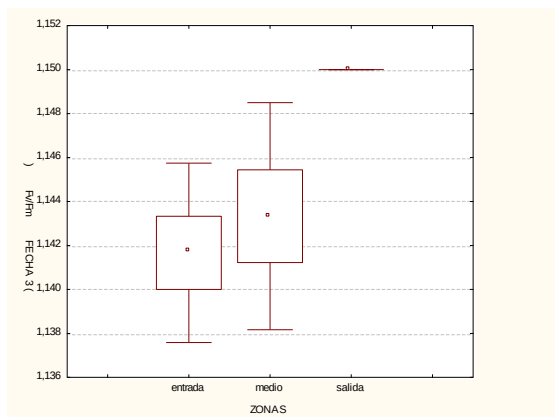
humedal, en donde la zona de entrada y salida tuvieron poca variación entre ellas, pero en la zona media si presentó diferencias con las otras dos en la fecha 6.



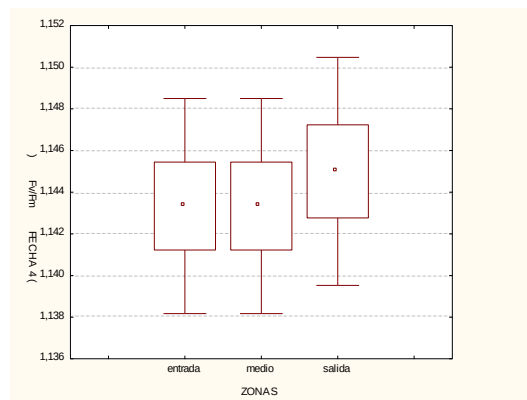
A)



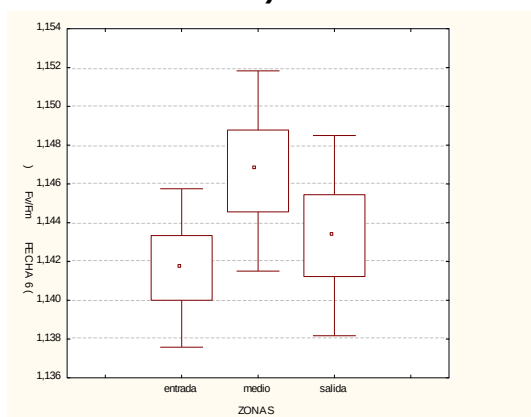
B)



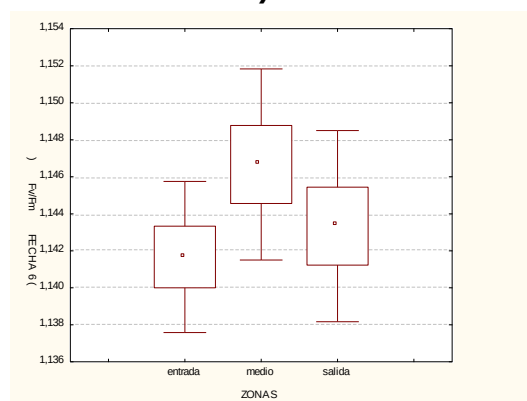
C)



D)



E)



F)

Figura 26. Comportamiento de la Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* en cada fecha de muestreo a través de las zonas del humedal. A) Fecha 1 Vs Zonas; B) Fecha 2 Vs Zonas; C) Fecha 3 Vs Zonas; D) Fecha 4 Vs Zonas; E) Fecha 5 Vs Zonas; F) Fecha 6 Vs Zonas.

En la Tabla 10, se detalla el Análisis de varianza (Anova), la cual muestra, que existe efectos con un nivel de significancia $P < 0,05$ en las siguientes fuentes de variabilidad: Fechas ($P = 0,032074$) y Zonas ($P = 0,010368$). En la Interacción entre fechas y zonas, se encontró un $P = 0,298698$, lo que indica que entre estas dos fuentes de variabilidad no existe interacción.

Tabla 10. Análisis de varianzas (Anova) de la Fluorescencia.

ANOVA FACTORIAL PARAMETRICA CON TIPO II DESCOMPOSICIÓN					
(FLUORESCENCIA)					
	SS	Degr. Of	MS	F	P
INTERCEPTO	141,7740	1	141,7740	2658262	0,000000
FECHAS	0,0007	5	0,0001	3	0,032074
ZONAS	0,0005	2	0,0003	5	0,010368
“ZONAS” Y “FECHAS”	0,0006	10	0,0001	1	0,298698
ERROR	0,0048	90	0,0001		

En la Tabla 11, se muestra el comportamiento de la Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* a través de las Fechas de muestreo, lo que indica que, realmente fue la Fecha 5, la que presentó diferencias entre la Fecha 4 y 6, lo que sugiere, fue causa de error experimental. Resultado que corrobora, el análisis descriptivo realizado anteriormente.

Tabla 11. Diferencias del comportamiento de la Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* entre las seis Fechas de muestreo.

PRUEBA DE TUKEY= PRUEBA POST HOC ERROR: BETWEEN MS = ,00005, df = 90,000 (FLUORESCENCIA)							
	FECHAS	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	FECHA 1		0,983296	0,999921	0,999921	0,077680	0,999921
2	FECHA 2	0,983296		0,997487	0,942328	0,320946	0,942328
3	FECHA 3	0,999921	0,997487		0,997487	0,132090	0,997487
4	FECHA 4	0,999921	0,942328	0,997487		0,043332	1,000000
5	FECHA 5	0,077680	0,320946	0,132090	0,043332		0,043332
6	FECHA 6	0,999921	0,942328	0,997487	1,000000	0,043332	

Estas diferencias, indican, que no fue ocasionada por un estrés hídrico, sí se tiene en cuenta, el comportamiento positivo del Potencial Hídrico, que está especie mostró, ya que este presentó diferencias en la Fecha 4 con la Fecha 5, y Fecha 5 con la Fecha 6, lo cual sugiere fue un error experimental por el lapso largo de tiempo en el muestreo de la Fecha 5 y 6 a comparación de las anteriores Fechas, y se tiene claro que el déficit hídrico, ocasiona que en las plantas, respondan inmediatamente con la caída de uno o varios procesos fundamentales, como lo son la fotosíntesis, el transporte de metabolito y/ o la toma y traslación de iones,

con lo que el crecimiento y la vitalidad de la planta disminuyen según Hsiao (1973) y Lichtenthaler (1998) citado por Reignosa et al. (2004).

Por un lado, se tiene que a medida que las hojas se deshidratan, su potencial hídrico se hace más negativo y se reduce la tasa fotosintética, pero se ha intentado identificar el potencial foliar crítica al cual comienza a disminuir la fotosíntesis de la mayoría de especies, pero todavía se realizan estudios sobre ello, según Reignosa et al. (2004).

Por otro lado, una cuestión general que se presenta en los estudios llevados a cabo, es que, hasta el momento, la influencia del déficit hídrico sobre la fotosíntesis se ha examinado normalmente en los estadios de desarrollo más temprano de plantas crecidas bajo condiciones controladas, siendo el caso de esta investigación. Por lo tanto, se requieren estudios que presenten una duración de tiempo extensa para analizar el llamado estrés hídrico de larga duración, y que se logre apreciar, bien el fenómeno de aclimatación (Conroy et al. 1988).

En la Tabla 12, se muestra el comportamiento de la Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* a través de las tres zonas del humedal subsuperficial: Entrada, Media y Salida, encontrándose diferencias entre la zona de entrada (1) y salida (3), mientras que en la zona media (2) con las otras dos zonas no mostró diferencias.

Estos resultados corroboran el análisis hecho hasta el momento, lo que indica que probablemente la Fluorescencia tuvo variación por dos causas: 1) factores ambientales, que dependiendo de su intensidad y duración pueden estar

reduciendo la vitalidad de la planta, como el caso de los altos niveles de radiación rápida externa, que provocan fotoinhibición de la fotosíntesis, la cual es provocada por la pérdida del funcionamiento del fotosistema II, a causa de la reducción en la utilización de la luz (Krause & Weis1991), que se manifiesta como una disminución transitoria o permanente, en la eficiencia cuántica de la fotosíntesis (mol de CO₂ fijado por mol de fotones absorbido) en niveles de luz de baja intensidad, y destrucción fotooxidativa del aparato fotosintético según Osmond (1994), citado por Prieto (2008); y 2) por la disminución de la concentración de la carga orgánica de agua residual aplicada desde la zona de entrada, donde las plantas absorbieron una alta concentración de nutrientes, y probablemente realizaron su función normal a nivel fotosintético, y en la zona media, fue disminuyendo, y finalmente en la zona de salida, ya el flujo de agua no presentaba nutrientes, que son fundamentales para los procesos fotosintéticos, evidenciándose en las plantas con un crecimiento entre 50 cm a 1 m de largo.

Tabla 12. Diferencias del comportamiento de la Fluorescencia de *Heliconia psittacorum* entre las zonas del humedal subsuperficial.

PRUEBA DE TUKEY= PRUEBA POST HOC ERROR: BETWEEN MS = ,00005, df = 90,000 (FLUORESCENCIA)			
ZONAS	{1}	{2}	{3}
1 Entrada		0,498545	0,008085
2 Medio	0,498545		0,134503
3 Salida	0,008085	0,134503	

Los valores bajos registrados en la Fluorescencia, se pueden explicar, según lo muestra Gemel et al. (1997), que cuando estos valores disminuyen, es porque el transporte de electrones es bloqueado por algún factor de estrés, al nivel del sitio de oxidación del agua en el fotosistema II. Y sí se tiene, en cuenta, la definición, que hace, Larcher (1995), sobre el estrés de la planta como un estado en el cual las crecientes demandas a las que es sometida la planta conducen a una desestabilización inicial de las funciones, seguida de un estado de normalización y una mejora de la resistencia por parte de la planta tolerante, se puede afirmar, que *Heliconia psittacorum*, al ser una especie tolerante, pudo haber presentado un estrés, en la asimilación de la carga orgánica de agua residual, pero está propició una respuesta positiva de aclimatación, y con ello su supervivencia, en este tipo de ambiente.

Por lo tanto, la hipótesis nula planteada, en la cual no existen diferencias significativas de la Fluorescencia entre las tres zonas definidas en el humedal subsuperficial con la carga orgánica residual aplicada y las fechas de muestreo, es rechazada, ya que los resultados muestran que si existen diferencias.

6.3. Análisis descriptivo del comportamiento del Nitrógeno Foliar.

Se aclara, que el análisis descriptivo realizado en los datos de Nitrógeno Foliar, se toma como un análisis preliminar para continuar con una investigación, en donde se darán algunas conjeturas sobre la probabilidad de inferencia de él, en la

asimilación en la planta, y su relación con los indicadores fisiológicos de Potencial hídrico y Fluorescencia.

La Tabla 13, presenta el análisis descriptivo de los datos de Nitrógeno Foliar, lo cual indica, que los datos oscilaron entre 0,38 a 12,8 mg/g, con un promedio de 8,56 mg/g. Estos resultados de asimilación de Nitrógeno foliar obtenidos, según la carga orgánica aplicada de 3,456 m³/d, coinciden con lo reportado en la literatura, si se tiene, en cuenta que la eficiencia en la asimilación de nutrientes directamente por las plantas puede ser solamente significativa cuando los niveles de los nutrientes de las aguas residuales son bajos, según Brix (1994). Es decir, que se recomienda utilizar una carga orgánica de agua residual, baja, para que se de una adecuada remoción de nutrientes en sistemas de humedales artificiales, ya que entre más concentración de un nutriente en la carga orgánica de agua residual, en este caso nitrógeno, menor es la eficiencia en la asimilación de los nutrientes.

Tabla 13. Estadística descriptiva del Nitrógeno Foliar.

ESTADISTICA DESCRIPTIVA (NITROGENO FOLIAR)					
	Valid N	Mean	Minimum	Maximum	Std.Dev.
NITRÓGENO FOLIAR	12	8,565348	0,380875	12,81055	3,52419

Por ello, en este estudio, la aplicación de la carga orgánica con la concentración ya mencionada, obtuvo una remoción no muy alta, a comparación de otros

estudios, ya realizados, en el que por ejemplo se mostró que tanto *Heliconia psittacorum* y *Phragmites australis*, al someterse a dos cargas diferentes, la primera recibió una carga de 1,72 m³/día mientras que segunda recibió una carga de 5.18 m³/día, y el promedio de remoción de *Heliconia* fue de 12.8 mg/g, mayor que el de *Phragmites* que es de 6.3 mg/g, según Prieto (2008).

En la Figura 27, se muestra el comportamiento del Nitrógeno Foliar a través de las cuatro fechas muestreadas, encontrando variación en todas ellas.

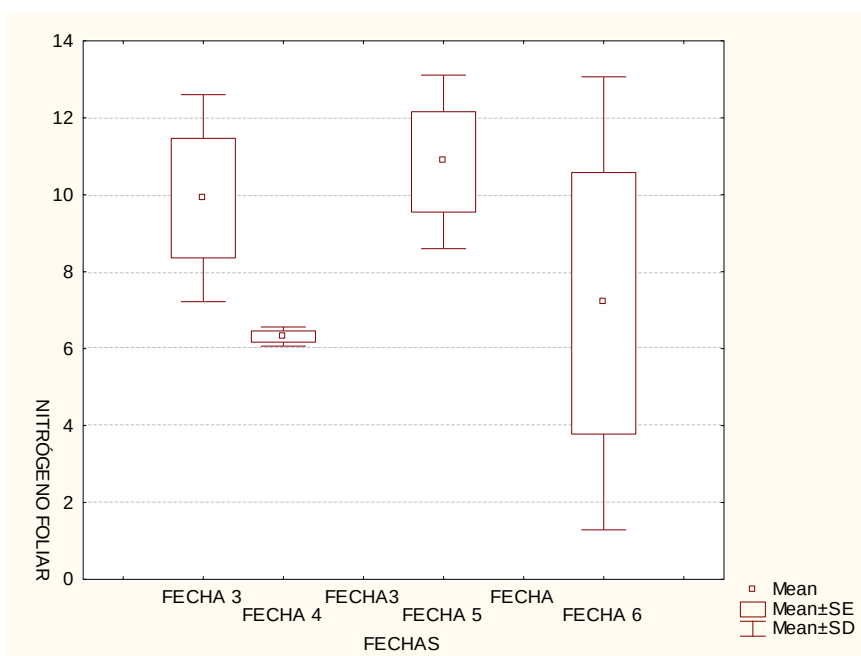


Figura 27. Nitrógeno Foliar de *Heliconia psittacorum* durante las fechas de muestreo.

En la Figura 28, se muestra el comportamiento del Nitrógeno Foliar en general a través de las tres zonas del humedal muestreadas. Se encontró, que existe variación entre las tres zonas, pero se observó una mayor diferencia en la zona de entrada a comparación de las otras dos, ya que la zona media y de salida tuvieron

una similar variación. Lo que indica, que el Nitrógeno de la carga orgánica de agua residual, fue asimilado por la planta en cada zona del humedal, de una manera diferente.

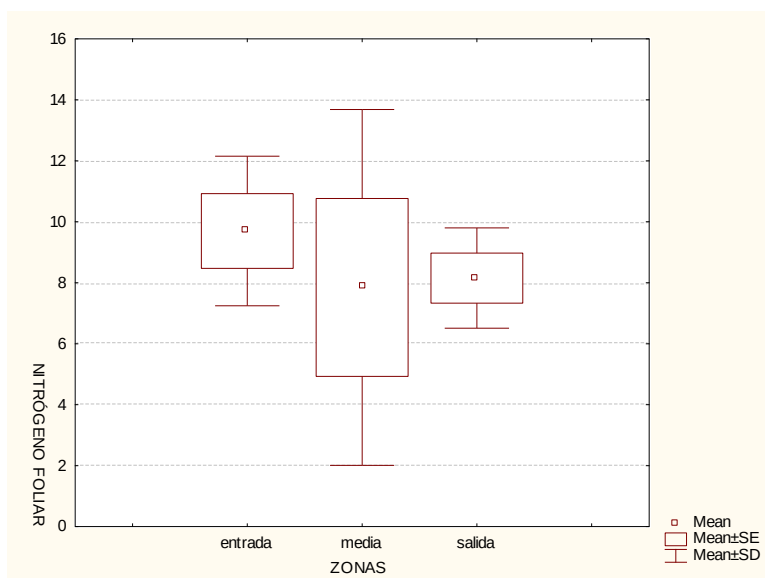


Figura 28. Nitrógeno Foliar de *Heliconia psittacorum* en las zonas del humedal.

Según el comportamiento del Potencial hídrico y Fluorescencia registrado, las plantas lo absorbieron positivamente, pudiendo observarse con el crecimiento visible de las plantas. En la zona de entrada con un mayor crecimiento, ya en la zona media, un poco menor que la anterior, y en la zona de salida, en la que las plantas ya no tuvieron casi concentración de este nutriente u otros (ver Tabla 3), ya captados por las anteriores plantas, ocasionó un crecimiento menor, notorio a comparación del crecimiento de las plantas en las otras zonas.

Para Gottschall et al. (2007) citado por Martínez (2008), los estudios que reportan el bajo nivel de asimilación por plantas, pueden haber subestimado el almacenamiento de nutrientes por muestreo exclusivo de biomasa superficial, ya

que una considerable cantidad se almacena en raíces y rizomas. Igualmente, el nivel de remoción por parte de las plantas depende del estado de madurez o edad del humedal como del flujo de la carga orgánica desde que entro al humedal hasta que salio. Por ello, se recomienda analizar exhaustivamente, la asimilación específicamente de las raíces y rizomas del nitrógeno u otro nutriente fundamental para las plantas.

En esté análisis descriptivo, se puede inferir que la especie *Heliconia psittacorum*, presenta características fisiológicas que la hacen ser, una planta nativa novedosa en el campo de la biorremediación, por ser tolerante a aguas residuales domésticas, aplicadas en humedales subsuperficiales, como lo afirman Martínez (2008) y Prieto (2008) en sus investigaciones con la misma especie, en el mismo humedal. Lo que propicia recomendar, realizar el estudio de esta especie a otro tipo de sistemas de tratamiento de zonas contaminadas, ya que los nutrientes inorgánicos que las plantas toman mayoritariamente del suelo, pueden limitar las actividades fotosintéticas y respiratoria de ellas, por problemas de absorción a través de las raíces, pero que no se evidencian en el comportamiento registrado a nivel fisiológico de la especie estudiada, sino antes por el contrario, con una respuesta positiva de asimilación (Reignosa et al. 2004), como lo indica la Tabla 3 en la diferencia entre la carga orgánica aplicada al inicio y la de salida.

En este estudio, se corrobora que los registros obtenidos del Potencial hídrico y de la Fluorescencia en especial, están relacionados con el nitrógeno foliar asimilado por las plantas, ya que, este nutriente es un constituyente de las proteínas y las

clorofilas, y es esencial para la formación de los tilacoides y las enzimas. De ahí, dice Li & Jones (2004), citado por Prieto (2008), que se encuentre una buena correlación entre el contenido de nitrógeno foliar, la cantidad de clorofila y la actividad de la enzima Rubisco, responsable de la fijación del CO₂, y en especial de las actividades fotosintéticas. Es así, que al igual que se ven afectadas las proteínas estomáticas y tilacoides por la falta de Nitrógeno, es previsible que las actividades enzimáticas asociadas a la matriz y a la membrana interna mitocondriales se vean también seriamente limitadas, y por ende, las actividades respiratorias.

Por otro lado, el hecho de que la carga orgánica de agua residual, presente un nutriente esencial para el excelente funcionamiento de la planta, es una ventaja fundamental no solo para ellas, sino para poder remediar las aguas residuales de una manera natural y económica, puesto que está comprobado, que los suelos que no sean claramente deficientes en algún elemento mineral, la disponibilidad de nutrientes es menos crítica, para la fotosíntesis que el resto de factores ambientales como la disponibilidad de CO₂, luz, temperatura, y agua, según Reignosa et al. (2004).

Se puede concluir que en la hipótesis nula planteada, en la cual no existen diferencias significativas en el nivel promedio general de acumulación de Nitrógeno foliar de *Heliconia psittacorum* y la relación entre el Potencial hídrico y la Fluorescencia en un humedal subsuperficial, es rechazada, ya que los resultados muestran que si existen diferencias.

7. CONCLUSIONES

- Se encontraron diferencias significativas para las variables fisiológicas de Potencial hídrico y Fluorescencia en las zonas del humedal y en las Fechas muestreadas. La carga orgánica y el flujo de agua residual están influenciando su comportamiento como algunos errores experimentales.
- Las plantas de la zona de entrada presentan un crecimiento más alto, que las demás plantas de las otras zonas, ya que estas recibieron directamente la carga orgánica de agua residual.
- Se realizó un análisis descriptivo del promedio en general del Nitrógeno foliar, encontrando diferencias entre zonas del humedal y fechas muestreadas. Es necesario realizar otras investigaciones para definir la capacidad de remoción de nitrógeno en un lapso de tiempo largo por parte de la especie *Heliconia psittacorum*.
- Se recomienda realizar investigaciones en el que se evalúe el efecto del sistema hidráulico del humedal en la eficiencia de remoción de la carga orgánica en la especie *Heliconia psittacorum*.
- Los parámetros evaluados para establecer la respuesta fisiológica de *Heliconia psittacorum*, registraron condiciones óptimas en ambientes con flujo de aguas residuales.
- La especie *Heliconia psittacorum*, es una especie tolerante, que permite la asimilación de cargas de aguas residuales, lo cual la hace ser una planta nativa novedosa en la fitorremediación.

8. GLOSARIO

Alcantarillado de aguas combinadas: Sistema compuesto por todas las instalaciones destinadas a la recolección y transporte, tanto de las aguas residuales como de las aguas lluvias.

Ambiente anóxico: Ambiente bioquímico en el cual no existe oxígeno molecular pero existe oxígeno en forma combinada como nitratos y nitritos.

Cloración: Aplicación de cloro, o compuestos de cloro, al agua residual para desinfección; en algunos casos se emplea para oxidación química o control de olores.

Digestión: Descomposición biológica de la materia orgánica de un lodo en presencia de oxígeno.

Hidrólisis: Proceso químico en el cual la materia orgánica se desdobla en partículas más pequeñas por la acción del agua.

Laguna anaerobia: Laguna con alta carga orgánica en la cual se efectúa el tratamiento en ausencia de oxígeno disuelto (molecular), con la producción de gas metano y otros gases como el sulfuro de hidrógeno (H_2S).

Lixiviado: Agua que contiene sustancias sólidas, por tanto esta contiene ciertas sustancias en solución aún después de percolar a través de un filtro o del suelo.

Polutante: Es una sustancia que causa contaminación y por definición puede causar algún efecto peligroso.

9. LITERATURA CITADA

ARANGO, G. A. 2007. Bio-sistema integral de tratamientos de aguas residuales domésticas: diseño, construcción y evaluación. Maestría en desarrollo sostenible y medio ambiente. Manizales- Colombia. Universidad del valle. 114p.

ASANO, T. 1991. Planning and Implementation of Water Reuse Projects. *Journal Water Science and Technology*. 24 (9): 1-10.

ATEHORTÚA, L. 1998. Aves del paraíso, strelitzia, gingers Alpinia y heliconias. Bogota, Ediciones Hortitecnia; 50p.

ATLAS, M. R. & R. BARTHA. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Madrid, Person educación S. A. (Adison Wesley). 950p.

BEAN, R., G. BERTHELOT, C. BRANTLEY, L. CARDOCH, W. CONNER, J. N. DAY, J. W. DAY, J. H. ENGLANDE, S. FEAGLEY, E. HYFIELD, R. LANE, J. LINDSEY, J. MISTICH, E. REYES, J. RYBCZYK, D. SABINS, R. TWILLEY. & J. Y. KO. Y. 2004. The use of wetlands in the Mississippi delta for wastewater assimilation: a review. *Journal Ocean & Coastal Management* 47: 671-691.

BEDERSKI, O., U. KAPPELMEYER, M. KÄSTNER, P. KUSCHK, H. MOORMANN, R. A. MÜLLER, U. STOTTMEISTER. & A. WIEBNER. 2003. Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Journal Biotechnology Advances* 22: 93-117.

BENAVIDES, L. J., V.L. GUEVARA, R. S. GUTIERREZ, C. D. JAIMES, G. J MIRANDA. & G. QUINTERO. 2006. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Revista Nova-Publicación científica* 5: 82-90.

BILGER, W., U. SCHREIBER. & M. BOCK. 1995. Determination of the quantum efficiency of photosystem II and of nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Journal Oecology* 102: 425-432.

BILLORE, S. K., N. SINGH, J. K. SHARMA, P. DASS. & R. M. NELSON. 1999. Horizontal Subsurface Flow Gravel Bed Constructed Wetland with *Phragmites Karka* in Central India. *Journal Water Science and Technology* 40: 163-171.

BOTINA, A. 2001. Alternativas de Tratamiento y Disposición Final de los Lodos Generados en la Laguna Anaerobia de la PTARD de Ginebra (Valle). Universidad del Valle. Facultad de Ingeniería. 250p.

BUILES, J. & V. MAZA. 2000. Heliconias de Antioquia guía de identificación y cultivo. Medellín, Ed. Gráficas Ltda. 391p.

BRIX, H. 1987. Treatment of wastewater in the rhizosphere of wetland plants: the root-zone method. *Journal Water Science and Technology* 19:107-118.

BRIX, H. 1993. Wastewater treatment in constructed wetlands: system design, removal processes, and treatment performance. In: Moshiri, G.A. (Ed.), *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL 9–22p.

BRIX, H. 1994. Functions of macrophytes in Constructed Wetlands. *Journal Water Science and technology*, 29 (4): 45 – 53

BRIX, H. 2003. Danish experiences with wastewater treatment in constructed wetlands". *Journal freelicht ved* 8(5): 24-34 .

CECHIN, I. & T. FUMIS. 2004. Effect of nitrogen supply on growth and photosynthesis of sunflower plants grown in the greenhouse. *Journal Plant Science* 166: 1379 – 1385.

CHAFLOQUE, W. A. & E. G. GÓMEZ. 2006. Diseño de humedales artificiales para el tratamiento de aguas residuales en la UNMSM. *Revista del Instituto de Investigaciones FIGMMG* 15: 85-96.

CHANG, Y. & M. Y. CORAPCIOGLU. 1998. Plant-enhanced subsurface bioremediation of nonvolatile hydrocarbons. *Journal Environmental Engineering*. 12: 162–169.

CHANG, H. T., L. YANG. & M. N. HUANG. 2001. Nutrient removal in gravel-and soil-based wetland microcosms with and without vegetation. *Journal Ecological Engineering* 18: 91-105.

CHEN, S., Y. BAI, L. ZHANG. & X. HAN. 2005. Comparing physiological responses of two dominant grass species to nitrogen addition in Xilin River Basin of China. *Journal Environmental and Experimental Botany*: 53 (1): 65 – 75.

CONOOR, D. J. & R. S. LOOMIS. 2002. *Ecología de cultivos: productividad y manejo en sistemas agrarios*. Madrid, Ediciones Mundi-prensa libros. 591p.

CONROY, J. P., J. M. VIRGONA, R. M. SMILE. & E. W. BARLOW. 1998. Influence of drought acclimation and CO_2 enrichment on osmotic adjustment and chlorophyll II fluorescence of sunflower during drought. *Journal Plant Physiology* 86: 1108-1115.

COOPER P. F. & A. G. BOON. 1987. The use of Phragmites for wastewater treatment by the root zone method: The UK approach. In: Reddy KR, Smith WH, editors. *Aquatic plants for water treatment and resource recovery*. Orlando, USA: Magnolia Publishing Company: 153–74.

COOPER, P., G. JOB, M. GREEN. & R. SHUTES. 1996. Reed beds and constructed wetlands for wastewater treatment. Severn Trent Water. WRc Swindon. UK. 200p.

CRITES, R. & G. TCHOBNOGLOUS. 2000. *Sistemas de manejo de aguas residuales para núcleos pequeños y descentralizados*. Bogotá, Mc Grawhill Interamericana, S. A. 989p.

CRUZ, A. M., C. E. OROZCO, A. J. POHLAN. & M. A. RODRÍGUEZ. 2006. Humedal subsuperficial de flujo vertical como sistema de depuración terciaria en el proceso de beneficiado de café. *Revista Higiene y Sanidad Ambiental* 6: 190-196.

DAMATTA, F.M., R. A. LOOS, E. A. SILVA. & M. E. LOUREIRO. 2002. Limitations to photosynthesis in *Coffea canephora* as a result of nitrogen and water availability. *Journal Plant Physiology* 159: 975 – 981.

DEL, J. & P. TOIVONEN. 2003. *Practical Applications of Chlorophyll Fluorescence in Plant Biology*. Kluwer academic. N.J., USA. 110p.

DEMMIG, A. B., W. ADAMS, D. H. BAKER, B. A. LOGAN, D. R. BOWLING. & A. S. VERHOEVEN. 1996. Using chloroplast fluorescence to assess the fraction of absorbed light allocated to thermal dissipation of excess excitation. *Journal Plant Physiology* 98: 253-264.

EGLI, P. & B. SCHMID. 1999. Relationships between leaf nitrogen and limitations of photosynthesis in canopies of *Solidago altissima*. *Journal Ecology* 20 (5): 559 – 570.

ELLIOTT, L. F, C. M. GILMOUR, J. M. LYNCH. & D. TITTEMORE. 1984. Bacterial colonization of plant roots. In: Todd RL, Giddens JE, editors. *Microbial– plant interactions*. Madison: Soil Science Society of America. 1 –16p.

EVANS, J. 1989. Photosynthesis and nitrogen relation slip in leaves of C_3 plants. *Journal Oecología* 74: 9-19.

EWEIS, B. & J. SARINA. 1999. *Principios de Biorrecuperación*. Madrid, Mc Graw Hill. 327p.

FIELD, C. & H. A. MOONEY. 1986. The photosynthesis-nitrogen relationships in wild plants. In: Givinish TJ (ed) *On the economy of plant form and function*. Cambridge University Press, Cambridge, England. 25-56p.

FIGUEROA, F.L. & I. GÓMEZ. 2001. Photosynthetic acclimation to solar UV radiation of marine red algae from the warm-temperate coast of southern Spain: A review. *Journal Applied Phycology* 13: 235-248.

GEMEL, J., B. WATERS-EARHART, M. R. ELLERSIECK, A. ASFAW, G. F. KRAUSE, V. PURI. & W. R. LOWER. 1997. Photosynthetic electron transport as a bioassay. *Journal Plants for Environmental Studies*. CRC Press LLC. New York. 209-224p.

GONZÁLEZ, O., J. HERNÁNDEZ, M. RODRÍGUEZ. & D. PRATS. 2000. Comportamiento de la demanda bioquímica de oxígeno en humedales con flujo subsuperficial horizontal. *Revista Tecnología del agua*, 203: 42-49.

GRAEFF, S. & W. CLAUPEIM. 2003. Quantifying nitrogen status of corn (*Zea mays L.*) in the field by reflectance measurements. *European Journal Agronomy* 19 (4): 611-618.

HABERL, R. 1999. Constructed wetlands: a chance to solve wastewater problems in developing countries. *Journal Water Science Technology*. 40 (3): 11-18.

HANSON, A. D. & W. D. HITZE. 1982. Metabolic responses of mesophytes to plant water deficit. *Journal Plant Physiology* 33: 163-203.

HORTON, P., A. V. RUBAN. & R. G. WALTERS. 1996. Regulation of light harvesting in green plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47: 655 – 684.

IRELAND, R., R. LONG. & R. BAKER. 1984. The relationship between carbon dioxide fixation and chlorophyll a fluorescence during induction of photosynthesis in maize leaves at different temperatures and carbon dioxide concentrations. *Journal Planta* 16: 550-558.

JESPERSEN, D.N., B. K. SORRELL. & H. BRIX. 1998. Growth and root oxygen release by *Typha latifolia* and its effects on sediment methanogenesis. *Journal Aquatic Botany* 61(3):165-180

KADLEC, R., H. W. BASTIACENS. & D. T. URBAN. 1993. Hydrological design of free water surface treatment wetlands. In G. Moshiri (ed). *Constructed wetlands for water quality improvement*; Lewis Publishers, Chelsea, MI: 77-86.

KADLEC, R. & R. KNIGHT. 1997. *Treatment Wetlands*. Lewis Publishers, Inc., Boca Raton, FL, USA.

KAUTSKY, H. & A. HIRSCH. 1931. Neue versuche zur kohlenstoffassimilation. *Journal Naturwissenschaften* 19: 964-975.

KICKUTH, R. 1984. Das Wurzelraumverfahren in der Praxis. *Landschaft Stadt* 16:145–53.

KNIGHT, R.L. 1994. *Designing Constructed wetlands for Nitrogen Removal*. Water Sci. Technol (29):15-27.

KOOTEN, V.O. & J. F. SNEL. 1990. The use of Chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. Journal Photosynthesis Research 25: 147–150.

KRALL, J. P. & E. GERALD. 1992. Relationship between photosystem II activity and CO₂ fixation in leaves. Journal Physiologia Plantarum 86: 180-187.

KRAUSE, G. & E. WEIS. 1984. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology II. Interpretation of fluorescence signals. Journal Photosynthesis Research 5: 139-157.

KRAUSE, G. & E. WEIS. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis. Journal Plant Physiology 42: 313-349.

KRESS, N. J. 1994. A preliminary classification of Heliconia (Heliconiaceae). Journal Allertonia 6: 1-58.

KRUZIC, A. P. & K. D. WHITE. 1996. Natural treatment and onsite processes. Journal Wat Environmental 68: 498–502.

KUSCHK, P., A. WIEBER. & U. STOTTMEISTER. 1999. Biological Processes in Wetlands System for Wastewater Treatment. In: Rehm, H.J., Reed. J. (Eds), Biotechnology. VCH-Wiley, Weinheim, Germany, Hammer, D.A. pp. 242 252.

KUSCHOK, P. & W. ARNDT. 2001. Experimental Strategies to investigate the influence of helophytes on the redox reaction in their rhizosphere. Meeting “Phytoremediation”. Leipzig. Germany. 867p.

LAHORA, A.C. 2003. Depuración de Aguas Residuales Mediante Humedales Artificiales: La Edar de los Gallardos. Ecología Manejo y Conservación de los Humedales. Primera Edición. España. Instituto de Estudios Almerienses. 257p.

LARCHER, W. 1995. Physiology plant ecology. III. Ed. Springer-Verlag, Berlín, Alemania. 506p.

LARA, B. J. 1999. Depuración de aguas residuales municipales con humedales artificiales. Master en ingeniería y gestión ambiental. Barcelona-España. Instituto Catalán de Tecnología- Universidad Politécnica de Cataluña. 113p.

LICHTENTHALER, H. K. 1998. Applications of chlorophyll II Fluorescence, Kluwer Academic Publishers Dordrecht. 76p.

LICHTENTHALER, H. K. & S. BURKART. 1999. Photosynthesis and high light stress. Bulgarian Journal Plant Physiology 25 (3): 3-16

LIENARD, A. 1987. Domestic wastewater treatment in tanks with emergent hydrophytes. Journal Water science technology 19: 373-375.

LONDOÑO, S. E. & C. A. GELVES. 2002. Metodología para el procesamiento del mineral de la zona aurífera de ginebra. Informe no.1 de Ingeominas. Instituto de investigación e información geocientífica. Ministerio de minas y energía. 28p.

MARTINEZ, M, R. 2008. Evaluación de la capacidad de remoción de nitrógeno y sus relaciones fisiológicas en *Heliconia psittacorum* (Heliconiaceae) expuesta a una carga orgánica de agua residual en un humedal artificial subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales en el Municipio de Ginebra-Valle. Tesis de Biología pregrado. Cali-Colombia, Universidad del Valle, Facultad de ciencias. 69p.

MAXWELL, K. & N. G. JOHNSON. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. Journal Experimental Botany 51: 659-668.

MCCUTCHEON, S. C., V. F. MEDINA. & S. SUSARLA. 2002. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. Revista Ecological Engineering 18: 647-658.

PEÑA, E. J., R. ZINGMARK. & C. NIETCH. 1999. Comparative photosynthesis of two species of intertidal epiphytic macroalgae on mangrove roots during submersion and emersion. Journal Phycology 35: 1206-1214

PERDOMO, S., C. BANGUESES. & J. FUENTES. 1999. Potential use of aquatic macrophytes to enhance the treatment of septic tank liquids. Water Science and Technology 40(3): 225-232.

POORTER, H. N. 2000. The role of biomasa allocation in the growth response of plants to different levels of Light, CO₂, nutrients and water: a quantitaive review. Australian Journal Plant Physiology 27: 595-607.

PRIETO, L, F. 2008. Evaluación de las respuestas fisiológicas en *Heliconia psittacorum* expuesta a una carga hidráulica en un humedal artificial subsuperficial para el tratamiento de aguas residuales domésticas en Ginebra-Valle. Tesis de Biología pregrado. Cali-Colombia, Universidad del Valle, Facultad de ciencias. 61p.

REED, S.C., E. J. MIDDLEBROOKS. & R. W. CRITES. 1988. Natural systems for wastewater treatment. In: Wetland Systems. McGraw-Hill, New York, NY. 202p.

REED, S., R. CRITES. & J. MIDDLEBROOKS. 1995. Natural System for Waste Management and Treatment. NY, McGraw-Hill. 67p.

REEDY, K. R. & W. F. DEBUSK. 1985. Nutrient removal potential of selected aquatic macrophytes. Journal of environmental quality. (19): 26.

REIGNOSA, M. J., N. PEDROL. & A. SANCHEZ. 2004. La Ecofisiología Vegetal, Una Ciencia de Síntesis. Madrid. Thomson Editores. 1193p

RESTREPO, L. F. 2007. Tipos de sumas de cuadrados en el análisis de varianza. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 20:209-215.

ROMERO, J. A. 1994. Acuitratamiento por Lagunas de Estabilización. Editorial Escuela Colombiana de Ingeniería. Bogotá-Colombia. 160p.

ROSE, G.D. 1999. "Community-based technologies for domestic wastewater treatment and reuse: options for urban agriculture" in cities feeding people, CFP report series, report 27.

SALISBURY, F.B. & C.W. ROSS.1994. Fisiología Vegetal. 4ª ed. México. Grupo Editorial Iberoamericana, S.A. 759p.

SAKADEVAN, K. & H. J. BAVOR. 1998. Phosphate adsorption characteristics of soils, slags and zeolite to be used as substrates in constructed wetland systems. *Journal Wat Enviromental* 32: 393–399.

SCHAAFSMA, J.A., A.H. BALDWIN. & C.A. STREB. 2000. An evaluation of a constructed wetland to treat wastewater from a dairy farm in Maryland, USA. *Ecological Engineering* 14:199-206.

SCHNOOR, J.L., L. A. LICHT, S. C. MCCUTCHEON, N. L. WOLFE. & L. H. CARREIRA. 1995. Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Journal Environmental Science Technology* 29: 318A –323A.

SAKADEVAN, K. & H. J. BAVOR. 1998. Phosphate adsorption characteristics of soils, slags and zeolite to be used as substrates in constructed wetland systems. *Wat Enviromental* 32: 393–399.

SEOÁNEZ, M. 1999. Aguas Residuales: Tratamiento por Humedales Artificiales. Ediciones Mundi/Prensa. España. 486p.

SEOÁNEZ, C. M. 2005. Depuración de las aguas residuales por tecnologías ecológicas y de bajo costo: Soluciones reales, viables, razonadas y contrastadas que ponen en evidencia la desastrosa gestión de las aguas residuales en España. Ediciones Mundi-Prensa Libros. 464p.

TAIZ, L. & E. ZEIGER. 2006. Fisiología Vegetal. Madrid, Ediciones Universidad Jaume I. 1903p.

TANNER, C. C. 1996. Plants for constructed wetland treatment systems- A comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. *Journal Ecological Engineering* 7: 59-83.

TECHDATA SHEET. 1998. Phytoremediation. Naval facilities engineering service center. phytoremediation. California, D. C. Public.

TRINIDAD, G. E. 2006. Cuantificación de bacterias nitrificantes, desnitrificantes, fijadoras de nitrógeno y heterótrofas de humedales artificiales subsuperficiales para el tratamiento de agua residual. Microbiología con énfasis en alimentos. Norte de Santander-Pamplona, Universidad de Pamplona, Facultad de ciencias básicas. 32p.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1993. Subsurface Flow Constructed Wetlands for Wastewater treatment: A Technology Assessment. EPA/832/R/93/001. Office of Wastewater Enforcement and Compliance. Washington, D.C. USA. 187p.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1995. Handbook of Constructed wetlands a guide to creating wetlands for: agricultural wastewater, domestic wastewater, coal mine drainage, and stormwater in the mid-atlantic region Vol. 1. No 903B9500UA. Washington, D.C. USA. 220p.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1988. Design Manual-Constructed Wetlands and Aquatic Plants System for Municipal Wastewater treatment. 625/111/88/022, Office of Research and Development. Center for Environmental Research Information. Cincinnati, Ohio, USA. 185p.

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 2000a. Manual constructed wetlands Treatment of Municipal Wastewater. EPA/625/2-99/010/. Us EPA office of Research and Development Cincinnati. 200p

U. S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 2000b. Guiding principles for constructed treatment wetlands providing for water quality and wildlife habitat. EPA 843-B-00-003. US EPA Office of wetlands oceans and watersheds Washington. 135p.

WALLACE, S. D. & R. L. KNIGHT. 2004. Water Environment Research Foundation (WERF) small-scale treatment wetland database. Liénard, A., Burnett, H. (eds.). Proceedings of the 9th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control, 26-30 September 2004; IWA Publishing: Avignon, France: 229-235.

WETZEL, R.G. 1993. Microcommunities and microgradients: linking nutrient regenerations, microbial mutualism, and high sustained aquatic primary production. *J. Aquat. Ecol.* 27 (1): 3-9.

WETZEL, R. G. 2000. Fundamental processes within natural and constructed wetland ecosystems: short-term versus long-term objectives. *Journal Water Science Technology.* 44 (11): 1-8.

WHITE, K. D. 1995 Enhancement of nitrogen removal in subsurface flow constructed wetlands employing a 2-stage configuration, an unsaturated zone, and recirculation. *Journal Water Science Technology* 32: 59-67.

WISSING, F. 1995. *Wasserreinigung mit Pflanzen*. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer. 254p.

WPCF. 1990. *Natural Systems for Wastewater Treatment, Manual of Practice FD-16*. Water Pollution Control Federation, Alexandria, VA. 456p.

ZAVODA, J., T. CUTRIGHT, J. SZPAK. & E. FALLON. 2001. Uptake, selectivity, and inhibition of hydroponics treatment of contaminants. *Journal Environmental Engineering* 127(6): 502– 508.

ZUÑIGA, J. 2004. *Influencia del Soporte y Tipo de Macrófita en la Remoción de Materia Orgánica y Nutrientes en Humedales Construidos de Flujo Subsuperficial Horizontal*. Tesis de pregrado. Chile, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 160p.