



**Bioestimulación de suelo contaminado con 40000 ppm de aceite residual automotriz
y fitorremediación con *Cicer arietinum* y *Burkholderia cepacia***

**Biostimulation of soil polluted by 40000 ppm of waste motor oil and phytoremediation with
Cicer arietinum and *Burkholderia cepacia***

Meza-Ramírez Janitzi Yunuén¹, Rico-Cerda José², Ruiz-Nájera Ramiro Eleazar³, Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{1*}

Datos del Artículo

¹Microbiología Ambiental. Ed B-3, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco J. Mujica S/N, Col. Felicitas del Río, CP 58000, Morelia, Michoacán, México.

²Laboratorio de Catálisis, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Francisco J. Mujica S/N, Col. Felicitas del Río C.P. 58000, Morelia, Mich, México.

³Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad Autónoma de Chiapas, Campus V, Apartado Postal 78, Villa Flores, Chiapas, México.

***Dirección de contacto:**

Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas (IIQB) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH). Edif. B-3 Ciudad Universitaria, Av. Francisco J. Mujica S/N Col. Felicitas del Río, Morelia Mich., 58040 México. Tel. +52 (443) 3223500 ext. 4240.

Juan Manuel Sánchez-Yáñez
E-mail address jsyanez@umich.mx

Palabras clave:

Suelo,
ARA,
composta bovina,
Cicer arietinum,
Burkholderia cepacia.

J. Selva Andina Res. Soc.
2016; 7(2):75-85.

Historial del artículo.

Recibido enero, 2016.
Devolto mayo 2016
Aceptado julio, 2016.
Disponible en línea, agosto, 2016.

Editado por:
Selva Andina
Research Society

Resumen

El suelo contaminado con 40000 ppm de aceite residual automotriz (ARA), es una mezcla de hidrocarburos, en concentración relativamente alta según la regulación mexicana al respecto la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138), que la define como no mayor a 4400 ppm/kg de suelo. Dado que esa cantidad causa la pérdida de fertilidad, inhibe la vida microbiana y disminuye la producción vegetal. Los objetivos del trabajo fueron i) Bioestimulación del suelo contaminado con 40000 ppm de ARA con lombricomposta y/o composta bovina, ii) Fitorremediación con *Cicer arietinum* y *Burkholderia cepacia* para decrecer el ARA a un valor inferior al máximo permisible por la NOM-138. Los resultados indicaron que la bioestimulación del suelo con 40000 ppm de ARA por composta bovina, lo eliminó a 24000 ppm en 49 días. Posteriormente la fitorremediación mediante *C. arietinum* y *B. cepacia* a madurez fisiológica lo decrecieron hasta 2760 ppm, concentración menor a la máxima aceptada por la NOM-138. Lo anterior apoya que en la biorremediación de suelo impactado con una relativa elevada concentración de ARA, la mejor opción fue la integración de la bioestimulación y fitorremediación, que aplicar cada una por separado.

© 2016. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

Soil polluted by 40000 ppm of waste residual oil (WRO), is a relative high hydrocarbons mix concentration according to Mexican regulation related with as the well know NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138). Due to cause lost soil's fertility, inhibiting microbial life and reducing vegetal production. To NOM-138 the highest limit of hydrocarbons mix allowed in soil is equal to 4400 ppm/kg. Aims of this research were: i) Biostimulation of soil polluted by 40000 ppm of WRO by vermicompost and/or bovine compost, ii) Phytoremediation by *Cicer arietinum* and *Burkholderia cepacia* to reduce WRO at below value compared to highest according to NOM-138. Results showed that biostimulation of soil with bovine compost eliminated WRO at 24000 ppm in 49 days. Then phytoremediation by *C. arietinum* and *B. cepacia* decreased WRO at 2760 ppm value below to compare to highest concentration allowed to NOM-138. It's concluded that bioremediation of soil impacted by relatively high concentration of WRO, the best strategy was to apply both biostimulation/phytoremediation that separate.

Key words:

Soil,
WRO,
bovine compost,
Cicer arietinum,
Burkholderia cepacia

© 2016. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

El suelo contaminado con 40000 ppm es una relativa alta concentración de aceite residual automotriz (ARA), acorde con la norma mexicana establecida al respecto la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138). En el suelo esta norma establece los límites máximos permisibles de la fracción de hidrocarburos (HICO) ligera de 200 ppm, de la mediana de 1200 ppm y de la pesada de 3000 ppm, en total 4400 ppm. El ARA es una mezcla de HICO alifáticos, aromáticos y metales pesados, generado por el ciclo de lubricación de automotores y maquinaria industrial (Sharifi *et al.* 2007, Ogedegbe *et al.* 2013). En suelo, el ARA forma una película hidrofóbica que disminuye su fertilidad (Ighovie & Edwin 2012), ya que inhibe la mineralización de la materia orgánica al impedir el intercambio gaseoso con la atmósfera, como la difusión del O₂ (oxígeno) y el agua (Larenas & de Viana 2005, Ogbo 2009). Además tiene un efecto negativo en la vida vegetal y microbiana en consecuencia causa una drástica disminución de la producción agrícola (Domínguez-Rosado & Pichtel 2004a, Domínguez-Rosado *et al.* 2004b, Zand *et al.* 2010).

En la literatura la aplicación exclusiva de la Bioestimulación (BIS) u Fitorremediación (FITO) en suelo con 40000 ppm, no reportan que el resultado cumpla con la expectativa de alguna regla ambiental similar a la mexicana conocida como la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003. Al respecto Vallejo *et al.* 2005 analizaron la BIS de un suelo contaminado con 30000 ppm de petróleo crudo con un fertilizante

mineral. El resultado fue la disminución de esta mezcla de HICO a 17700 ppm en 28 días, valor muy alto para considerarlo no contaminado de acuerdo con la NOM-138. Mientras que Abdulsalam & Omale 2009 reportaron la BIS de un suelo contaminado con 40000 ppm de ARA con una solución mineral (SOMI) que lo disminuyó a 12320 ppm luego de 42 días, concentración todavía superior a la máxima reconocida por la NOM-138.

Generalmente en la FITO de suelo contaminado con ARA o mezclas de otros HICO en concentración cercana a 40000 ppm, se emplean vegetales que no se potencian con géneros de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BAPOVE), que además tengan capacidad de oxidar HICO como el género y especie de *Burkholderia cepacia*. Normalmente trabajos sobre la FITO de suelo contaminado con mezclas de HICO, sin BAPOVE según la literatura solo reportan la disminución de esa concentración, pero no a un valor inferior al mayor aceptado por la NOM-138, un ejemplo de lo anterior fueron Shirdam *et al.* 2008 que analizaron la FITO de un suelo contaminado por 40000 ppm de petróleo con *Sorghum vulgare*, que lo redujo a 9500 ppm en 90 días, concentración aún superior a la máxima permisible por la NOM-138. De la misma manera que Zand *et al.* 2010 reportaron la FITO de un suelo impactado con 40000 ppm de petróleo crudo con *Zea mays*, en cuyo caso lo decreció a 17920 ppm en 120 días, valor aun relativamente alto en comparación al máximo aceptado por la NOM-138. Mientras que Baruah *et al.* 2013, reportaron la FITO de un suelo impactado con 30000 ppm de petróleo crudo con

Cyperus brevifolius, que lo decreció a 8100 ppm, concentración aún superior a la máxima reconocida por la NOM-138. Con base en lo anterior se propone la integración de la BIS y FITO en suelo contaminado con concentración relativamente alta de HICO (Maldonado-Chávez *et al.* 2010). Así los objetivos de este trabajo fueron: i) Bioestimulación de suelo contaminado con 40000 ppm de ARA con lombricomposta y/com posta bovina y la ii) Fitorremediación con *C. arietinum* y *B. cepacia* para minimizar el ARA a concentración inferior a la máxima permisible por la NOM-138.

Materiales y métodos

Descripción y montaje del experimento. Esta investigación se realizó en el invernadero del Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la UMSNH, Morelia, Mich., México. Donde las condiciones microclimáticas promedio fueron: temperatura de 23.2 °C, luminosidad de 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y humedad relativa de 67%. Para este ensayo se utilizó un suelo colectado de un sitio ubicado a los 19° 39' 27'' de latitud norte 100° 19' 59'' de longitud oeste, con una altitud de 1820 msnm de clima templado en un terreno agrícola denominado "La Cajita" de la Tenencia Zapata del municipio de Morelia, Mich., México sobre el km 5 de la carretera Morelia-Pátzcuaro, Mich, México.

Tabla 1 Diseño experimental para la bioestimulación de suelo contaminado con 40000 ppm de aceite residual automotriz con lombricomposta, composta bovina y fitorremediación con *Cicer arietinum* y *Burkholderia cepacia*

Suelo	Aceite residual automotriz 40000 ppm	Bioestimulación t = 7 semanas		Fitorremediación t = 13 semanas		
		Lombri-composta 3.0%	Composta bovina 3.0%	<i>Cicer arietinum</i>	<i>Burkholderia cepacia</i> I	<i>Burkholderia cepacia</i> II
Control Absoluto (CA)	-	-	-	+	-	-
Control Relativo (CR)	-	-	-	+	-	-
Control negativo (CN)	+	-	-	-	-	-
Tratamiento (T1)	+	+	-	+	+	-
T2	+	-	+	+	+	-
T3	+	+	+	+	+	-
T4	+	+	+	+	-	+
T5	+	+	+	+	+	+

Tabla 2 Propiedades fisicoquímicas del suelo contaminado con aceite residual automotriz

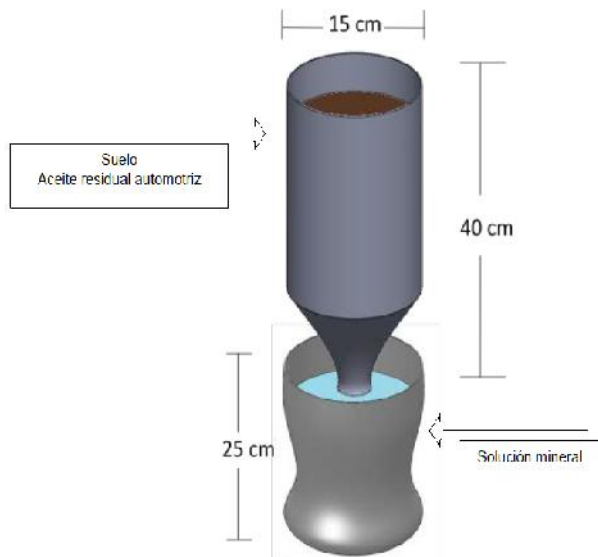
Parámetro	Valor
Nitrógeno	0.62
Fosforo	0.30
pH (1:20)	6.41
Material orgánica (%)	4.30
Capacidad de intercambio catiónico (Cmol(+) Kg ⁻¹)	32.45
Textura (%)	24(Ac)-22(L)-54(Ar)
Densidad real (g/cm ³)	2.04
Densidad aparente (g/cm ³)	0.96
Porosidad** (%)	53.74
Porcentaje de saturación de humedad (%)	38
Capacidad de campo*** (%)	18.89
Humedad aprovechable (%)	9.45

Ar: arena, L: limo, Ac: arcilla, *Para suelos de origen volcánico,

**Calculada a partir de Da y Dr,

*** Estimada a partir de textura, *Reportada para suelo franco-arenoso según la NOM-021-RECNAT-2000.

Figura 1 Jarra de Leonard



El suelo se solarizó a 70 °C/48 h para minimizar el problema de plagas y enfermedades, posteriormente se tamizó con una malla del No. 20. El suelo se contaminó artificialmente con 40000 ppm de ARA proveniente de un taller mecánico que se diluyó con una solución de detergente La Corona® al 10%. Luego 1.0 kg suelo se colocó en el contenedor superior de la unidad experimental jarra de Leonard (Figura 1) mientras que la SOMI o agua se colocó en el reservorio de la parte inferior, ambas se conectaron por una tira de algodón de aproximadamente de 20 cm de largo para permitir el movimiento de la SOMI o agua por capilaridad al suelo, según el tratamiento indicado en la Tabla 1 del diseño experimental con 3 controles: el suelo sin contaminar con ARA irrigado solo con agua o control absoluto (CA), ese suelo sin ARA y alimentado con SOMI o el control relativo (CR), este suelo contaminado con ARA sin bioestimular/fitorremediar o control negativo (CN) y ese suelo impactado por ARA, no bioestimulado con LOCO y/o COBO, luego la FITO mediante *C. arietinum* y/o *B. cepacia* cepas I y II, am-

bas aisladas de las raíces de *Zea mays var mexicana* de acuerdo con García-González *et al.* 2005, diferenciadas de acuerdo a su capacidad de degradar HICO alifáticos y algunos aromáticos.

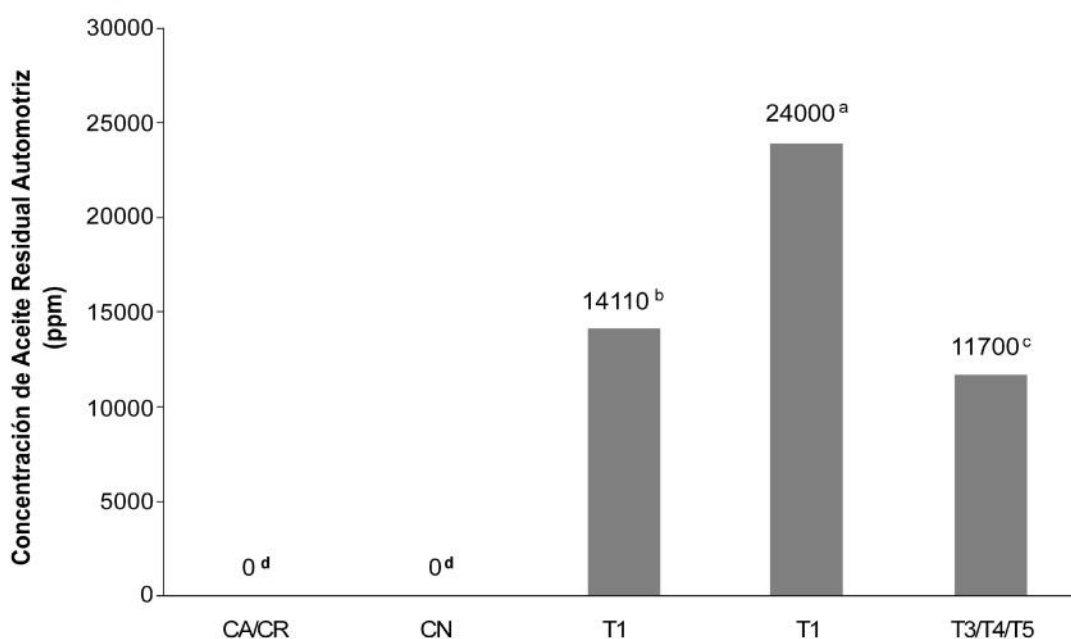
Al inicio el suelo CR se trató con una SOMI con la siguiente composición química (g/L): NH_4NO_3 10, K_2HPO_4 2.5, KH_2PO_4 2.0, MgSO_4 1.0, NaCl 0.1, CaCl_2 0.1, FeSO_4 trazas y 10.0 mL/L de una solución de microelementos (g/L): H_3BO_3 2.86, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22, $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.81, a pH 6.8-7.0, aplicada cada semana durante mes (Vallejo *et al.* 2005, Sangabriel *et al.* 2006). Para la FITO del suelo y reducir el ARA remanente, por cada 20 semillas de *C. arietinum* se inocularon con 1.0 mL de *B. cepacia* cepas I y II, individual/o en mezcla, se empleó la relación 1:1, la concentración bacteriana se ajustó con el tubo No. 5 del nefelómetro de Mc Farland equivalente a 1.5×10^8 bacterias/mL (Roseleone 2014). La cepas de *B. cepacia* se cultivaron en caldo *Pseudomonas cepacia*, ácido azaleico y triptamina (CAPCAT) con la siguiente composición (g/L): triptamina 0.2, ácido azaleico 2.0, K_2HPO_4 4.0, KH_2PO_4 4.0, extracto de levadura 0.02, MgSO_4 0.2, y pH ajustado a 6.7. Luego de sembrar el CAPCAT se incubaron a 30 °C/72 h. Posteriormente las semillas de *C. arietinum* tratadas con *B. cepacia* se sembraron en suelo contaminado con ARA, y se dejó crecer hasta madurez fisiológica. La biomasa de *C. arietinum* durante la FITO del suelo se midió con las variables-respuesta: peso fresco y seco aéreo/radical (PFA/PFR)/(PSA/PSR) (Hernández-Valencia & Mager 2003) a nivel de plántula, floración y madurez fisiológica. En el suelo cuando *C. arietinum* alcanzó la madurez fisiológica después de 90 días, se determinó la concentración de ARA por Soxhlet (García-Hernández *et al.* 2007). Los datos experimentales se analizaron por Tukey HSD

al 0.05% y uso del programa Statgraphics Centurion XVI.II.

Propiedades fisicoquímicas del suelo usado en el experimento. La Tabla 2 muestra las propiedades fisicoquímicas del suelo sin ARA donde se realizó el ensayo: con un pH moderadamente ácido de 6.41, un bajo contenido en materia orgánica de 4.30%;

una alta capacidad de intercambio catiónico de 32.45 Cmol(+) Kg⁻¹, y una textura compuesta por: arcilla 24%, limo 22% y arena 54%, por lo anterior el suelo se clasificó como franco-arcilloso-arenoso (NOM-021- RECNAT-2000, Banks *et al.* 2003, Basumatary *et al.* 2012).

Figura 2 En suelo concentración de aceite residual automotriz derivado de la bioestimulación con lombricomposta y composta bovina al 3.0% por 7 semanas



Control Absoluto (CA)=suelo + agua: **Control Relativo (CR)**= suelo + solución mineral: **Control Negativo (CN)**=Suelo+aceite residual automotriz (ARA)
Tratamiento o Bioestimulación (T1)=Suelo+ARA+ lombricomposta (LOCO)+ *Cicer arietinum* +*Burkholderia cepacia* I.
T2=Suelo+ARA+ composta bovina (COBO) + *C. arietinum* +*B. cepacia* II.
T3=Suelo+ARA+ LOCO + COBO + *C. arietinum* +*B. cepacia* I.
T4=Suelo+ARA+ LOCO + COBO + *C. arietinum* +*B. cepacia* II.
T5=Suelo+ARA+ LOCO + COBO + *C. arietinum* +*B. cepacia* I+*B. cepacia* II.
 *Letras distintas son estadísticamente diferentes (ANOVA, P<0.05, Tucker HSD), n=6.

Resultados

Bioestimulación de suelo contaminado con 40000 ppm de ARA. En la figura 2 se muestra la BIS del suelo contaminado con 40000 ppm de ARA con

LOCO y COBO en 7 semanas, que registró una eliminación parcial de 24000 ppm, en comparación con el mismo suelo (CN) con ARA, no bioestimulado ahí la concentración del ARA no cambió. En el suelo señalado como tratamiento 1 (T1) había

40000 ppm de ARA después de la BIS con LOCO al 3.0% por 7 semanas, la mezcla de HICO decreció a 14110 ppm. En tanto que en el mismo suelo (T2) bioestimulado con COBO al 3.0%, el ARA se redujo a 24000 ppm. Mientras que en el mismo suelo contaminado con ARA codificados como T3, T4 y T5 la BIS mediante la combinación de LOCO y COBO en 7 semanas eliminaron el ARA hasta 11700 ppm.

Fenología y biomasa de *Cicer arietinum* inoculado con *Burkholderia cepacia* I y II en la fitorremediación de suelo con el ARA remanente de la bioestimulación. En la tabla 3 se muestra la FITO del suelo contaminado con ARA en la biomasa de *C. arietinum* en función del peso fresco aéreo (PFA) y peso fresco radical (PFR). En general se observó que la biomasa de *C. arietinum* a nivel floración fue afec-

tada negativamente por el ARA comparado con la biomasa de *C. arietinum* crecida en ese suelo usado como CR. Además se indica que la biomasa de *C. arietinum* a madurez fisiológica (MF) para la FITO del suelo (T4) registro 0.52 g de PFA, 0.52 g de PFR, 0.48 g de PSA y 0.35 g de PSR. Mientras que la biomasa de *C. arietinum* en el suelo del T5 con ARA y bioestimulado con LOCO y COBO registro 1.86 g de PFA, 1.26 g de PFR, 0.56 g de PSA y 0.52 g de PSR. En tanto que *C. arietinum* en el suelo T3 registro 3.60 g de PFA, 1.45 g de PFR, 0.88 g de PSA y 0.56 g de PSR. Todos estos valores fueron estadísticamente diferentes e inferiores a la biomasa de *C. arietinum* usado como CR con 18.30 g de PFA, 6.29 g de PFR, 4.41 g de PSA y 3.05 g de PSR a nivel de madurez fisiológica.

Tabla 3 Biomasa de *Cicer arietinum* inoculado con *Burkholderia cepacia* I y II en la fitorremediación de suelo contaminado con aceite residual automotriz remanente de la bioestimulación

	Peso fresco aéreo			Peso fresco radical			Peso seco aéreo			Peso seco radical		
	(g)			(g)			(g)			(g)		
	P	F	MF	P	F	MF	P	F	MF	P	F	MF
Control Absoluto (CA)	1.00 ^b	6.43 ^a	12.86 ^b	0.98 ^b	2.32 ^b	5.31 ^b	0.16 ^b	1.85 ^b	2.33 ^b	0.16 ^b	1.99 ^b	2.82 ^b
Control Relativo (CR)	1.25 ^a	6.60 ^a	18.30 ^a	1.05 ^a	3.44 ^a	6.29 ^a	0.17 ^a	2.19 ^a	4.4 ^a	0.17 ^a	2.34 ^a	3.05 ^a
Control Negativo (CN)	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^f	0.00 ^f	0.00 ^e	0.00 ^f	0.0 ^e	0.00 ^f	0.00 ^f	0.00 ^e	0.00 ^e	0.0 ^e
Tratamiento 1 (T1)	-	0.46 ^b	1.58 ^d	-	0.56 ^c	0.63 ^d	-	0.28 ^c	0.35 ^d	-	0.29 ^c	0.38 ^d
Tratamiento 2 (T2)	-	0.49 ^b	1.73 ^c	-	0.59 ^c	0.8 ^c	-	0.27 ^c	0.45 ^c	-	0.31 ^c	0.47 ^c
Tratamiento 3 (T3)	0.80 ^c	1.14 ^b	3.60 ^c	0.71 ^d	1.03 ^c	1.45 ^c	0.12 ^c	0.48 ^c	0.88 ^c	0.11 ^c	0.43 ^c	0.56 ^c
Tratamiento 4 (T4)	0.63 ^d	0.91 ^c	0.52 ^e	0.43 ^e	0.48 ^d	0.52 ^e	0.08 ^d	0.18 ^e	0.48 ^e	0.07 ^d	0.30 ^d	0.35 ^d
Tratamiento 5 (T5)	0.77 ^c	1.10 ^b	1.86 ^d	0.81 ^c	1.00 ^c	1.26 ^d	0.13 ^c	0.38 ^d	0.56 ^d	0.10 ^c	0.45 ^c	0.52 ^c

P=Plántula; F=Floración; MF=Madurez Fisiológica;

Control negativo (CN)=Suelo+aceite residual automotriz (ARA); T1 (Bioestimulación y Fitorremediación)=Suelo+ARA lombricomposta (LOCO)+ *Cicer arietinum* +*Burkholderia cepacia* I.

T2=Suelo+ARA+composta bovina (COBO)+ *C. arietinum* +*B. cepacia* II, T3=Suelo+LOCO + COBO + ARA+ *C. arietinum* +*B. cepacia* I.

T4=Suelo+ARA+ LOCO + COBO + *C. arietinum* +*B. cepacia* II, T5=Suelo+ARA+LOCO + COBO + *C. arietinum* +*B. cepacia* I+*B. cepacia* II.

*Letras distintas con diferencia estadística (ANOVA, P<0.05, Tuckey HSD), n=6.

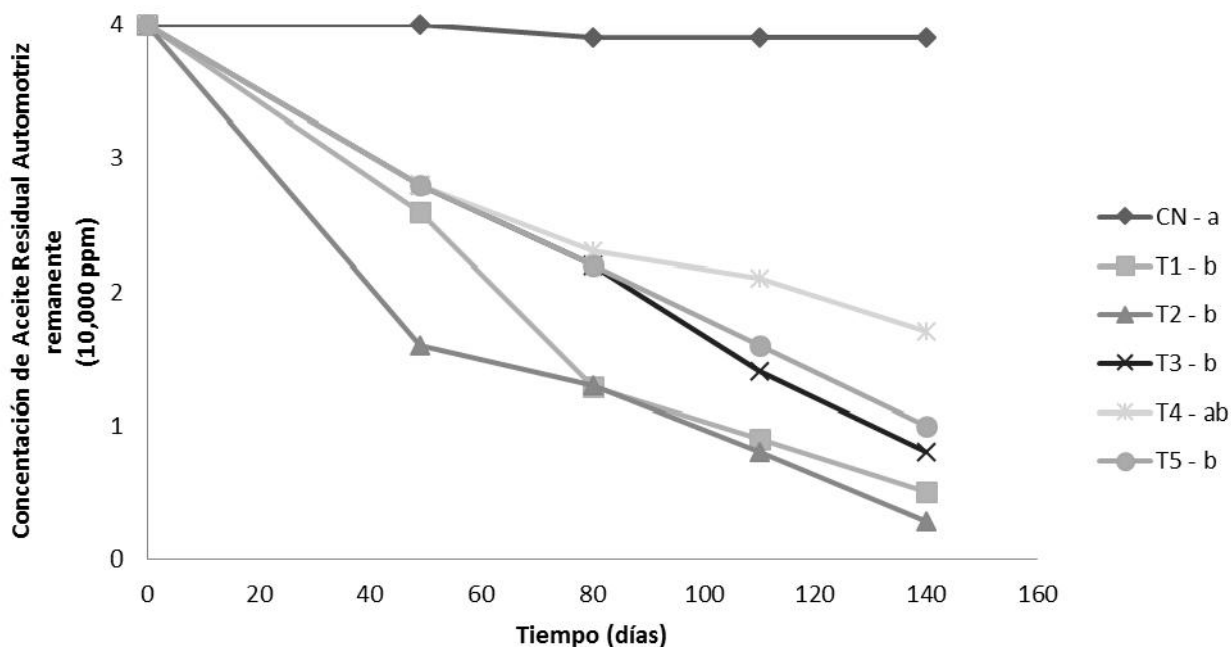
Dinámica de la concentración de 40000 ppm de aceite residual automotriz después de la bioestimulación y fitorremediación. En la figura 3 en suelo se indica la dinámica de la concentración de 40000 ppm de ARA después de la BIS por 49 días y posterior FITO durante 91 días. Con base en este ensayo se demostró que solo aplicar la BIS con LOCO y/o

COBO, fue solo parcialmente útil para disminuir la concentración de ARA. En consecuencia en suelo impactado con esa cantidad ARA, requirió la secuencial FITO con *C. arietinum* y *B. cepacia* para decrecerlo a valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138.

Validación de la biorremediación y fitorremediación de suelo contaminado con 40000 ppm de aceite residual automotriz. En la figura 3 se presenta la BIO del suelo contaminado con 40000 de ARA con COBA al 3.0 %, y posterior FITO con *C. arietinum* y *B. cepacia* I, ahí se registró una mineralización del ARA hasta en un 93.1%, equivalente a 2760 ppm, una concentración menor a la máxima aceptada por

la NOM-138 de 4400 ppm. En ese sentido se elaboró un el modelo matemático presentado en la figura 3 que muestra una curva parabólica de relación proporcional entre el aumento en la velocidad de la BIS y la FITO en la eliminación del ARA para la biorremediación del suelo.

Figura 3 Concentración de aceite residual automotriz remanente en suelo bioestimulado con lombricomposta y/o composta bovina, y posterior fitorremediación mediante *Cicer arietinum* y *Burkholderia cepacia* I y/o II, a valor menor al máximo aceptado por la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003



Control negativo (CN)=Suelo+ aceite residual automotriz (ARA); Tratamiento (Bioestimulación y Fitorremediación) (T1) =Suelo+ARA+ lombricomposta (LOCO)+ *Cicer arietinum* +*Burkholderia cepacia* I.
 T2=Suelo+ARA+ composta bovina (COBO)+ *C. arietinum* +*B. cepacia* II; T3=Suelo+ARA+LOCO + COBO + *C. arietinum* +*B. cepacia* I.
 T4=Suelo+ARA+ LOCO + COBO + *C. arietinum* +*B. cepacia* II; T5=Suelo+ARA+LOCO + COBO + *C. arietinum* +*B. cepacia* I+*B. cepacia* II

Discusión

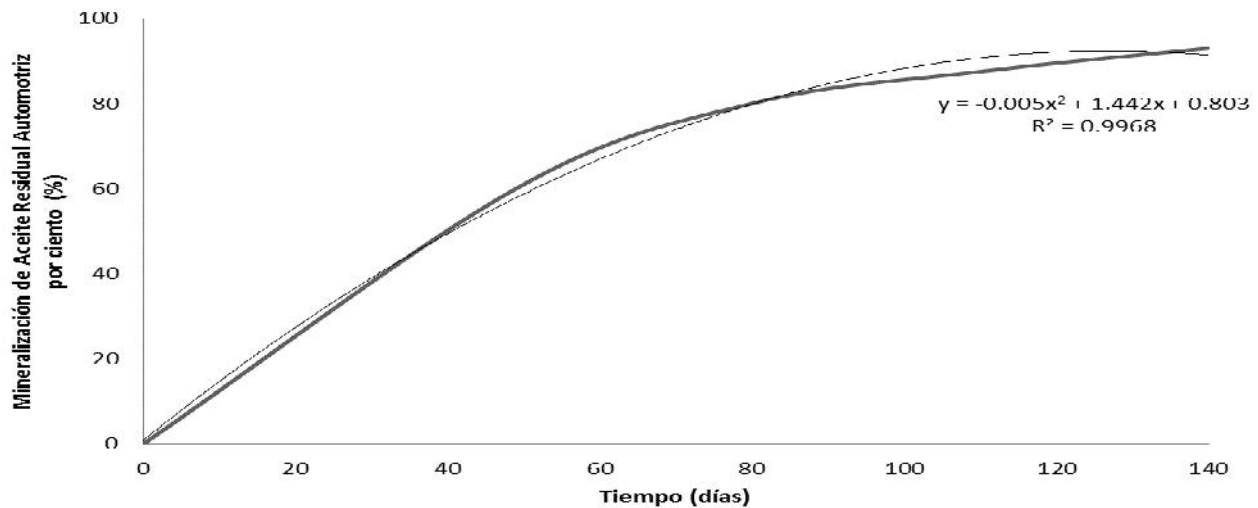
En la figura 2 muestra la importancia de la BIS con los abonos animales, cuyos componentes químicos compuestos de N (nitrógeno) Fósforo (P), Potasio (K), materia orgánica, de acuerdo a lo mostrado en

la tabla 2 y microorganismos degradadores de HICO (biológicos) de la LOCO y COBO estimularon y ayudaron a la microbiota nativa oxidante HICO para decrecer la concentración del ARA entre 29, 35 y 60% de su valor original respectivamente (Ferreira-Cerrato *et al.* 2007). En la tabla 3, se presenta

que durante la FITO del suelo con *C. arietinum* inoculado con *B. cepacia* con el remanente del ARA de la BIS. Fue evidente el efecto tóxico de los HICO del ARA sobre la fenología y biomasa esta la leguminosa que inoculada con *B. cepacia* contribuyó a la degradar de parte de los HICO del ARA, este

resultado es coherente con lo reportado por Quiñones-Aguilar *et al.* (2003), Rivera-Cruz & Trujillo-Narcia (2004), Pérez-Armendáriz *et al.* (2011) quienes probaron que los HICO fitotóxicos causaron una disminución en los valores de la biomasa al igual, que la deformación de la raíz vegetal.

Figura 4 En suelo mineralización de 40000 ppm de aceite residual automotriz por bioestimulación con lombricomposta al 3% y fitorremediación mediante *Cicer arietinum* y *Burkholderia cepacia* a valor inferior a la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003



No obstante *C. arietinum* inoculado con *B. cepacia* sobrevivió al este stress por el ARA, para reducirlo a una concentración a un valor inferior al máximo permitido por la NOM-138, objetivo fundamental de integrar la BIS con la FITO y no de producción vegetal, sino una acción doble para descontaminar el suelo.

En la Figura 3 fue evidente que la BIS del suelo impactado con una relativa alta concentración de ARA, la LOCO como la COBO, fueron fundamentales en la disminución de la cantidad de los HICO del ARA y que además modificaron las condiciones fisicoquímicas del suelo para favorecer al vegetal empleando en la FITO, mediante la combinación de

C. arietinum y *B. cepacia* que de manera que fue posible la disminución de la concentración de ARA a un valor menor al máximo aceptado por la NOM-138, y conseguir su remediación desde el punto de vista ambiental legal.

En la Figura 4 se muestra para el suelo impactado con ARA explicado con un modelo matemático que demostró que la integración de la BIS con la FITO, fue una estrategia adecuada para su depuración de esta mezcla de HICO. Este modelo matemático señaló 3 aspectos fundamentales en este ensayo de limpieza ambiental: i) que en suelo contaminado con concentración de 40000 ppm de ARA, relativamente elevada acorde con la NOM-138 es neces-

rio implementar un estrategia de BIS que permita una disminución de la mezcla a nivel suficiente para; ii) aplicar la FITO con una planta que sea inoculada con un género de BPCV del tipo *B. cepacia* siendo ambos tolerantes a la fitotoxicidad de los HICO del ARA y lograr en un tiempo razonable la biorremediación del suelo acorde, iii) con alguna regulación ambiental que garantice su remediación y no sea solo una disminución de la concentración dejando el problema latente de contaminación y la imposibilidad de su reutilización en alguna actividad productiva o recreativa (Rivera-Cruz & Trujillo-Narcía 2004, Ferrera-Cerrato *et al.* 2007).

Se demostró que la BIS con LOCO y COBO seguida de la FITO de suelo impactado con 40000 ppm de ARA mediante la siembra de *C. arietinum* inoculado con *B. cepacia*, y disminuir la concentración de los HICO del ARA, a un valor menor al máximo permisible por la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, y considerar que el suelo se biorremedió.

En general en la literatura no se reporta normas internacionales de contaminación de suelo para mezclas de HICO del tipo ARA, según lo especifica la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Por lo que se propone trabajos realizados al respecto deberían mostrar una referencia legal ambiental, para determinar si la concentración remanente con mezclas de HICO al final de la BIS y/o FITO de un suelo, son o no contaminantes y dar solución al problema.

Conflictos de intereses

Los participantes de esta investigación declaramos que no existe ningún conflicto de interés entre las instituciones participantes, como tampoco con las fuentes de apoyo para su realización.

Agradecimientos

Al proyecto 2.7 (2016) de la Coordinación de la Investigación Científica-UMSNH; al Laboratorio de Edafología de la Facultad de Biología de la UMNSH por el análisis fisicoquímico del suelo. A BIONUTRA S.A, de C.V, Maravatio, Mich, México.

Literatura citada

- Abdulsalam S, Omale A. Comparison of Biostimulation and Bioaugmentation Techniques for the Remediation of Used Motor Oil Contaminated Soil. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 2009; 52(3): 747-54.
- Banks MK, Kulakow P, Schwab AP, Chen Z, Rathbone K. Degradation of Crude Oil in the Rhizosphere of *Sorghum bicolor*. *Int J Phytoremediation.* 2003; 5(3):225-34.
- Baruah P, Baruah PP, S Deka S. Removal of Hydrocarbon from Crude oil Contaminated Soil by *Cyperus brevifolius* Rottb. *Bull Environ Pharmacol Life Sci.* 2013; 2(6): 123-30.
- Basumatary B, Bordoloi S, Sarma H. Crude Oil-Contaminated Soil Phytoremediation by Using *Cyperus brevifolius* (Rottb.) Hassk. *Water Air Soil Poll.* 2012; 223(6): 3373-83.
- Domínguez-Rosado E, Pichtel J, Coughlin M. Phytoremediation of Soil Contaminated with Used Motor Oil: I. Enhanced Microbial Activities from Laboratory and Growth Chamber Studies. *Environ Eng Sci.* 2004b; 21(2):157-69.
- Domínguez-Rosado E, Pichtel J. Phytoremediation of Soil Contaminated with Used Motor Oil: II. Greenhouse studies. *Environ Eng Sci.* 2004a; 21 (2):169-80.

- Ferrera-Cerrato R, Alarcón A, Trejo-Aguilar D, Sangabriel W, Mendoza-López MR, Cruz-Sánchez JS. et al. Fitorremediación de un suelo contaminado con combustóleo utilizando *Phaseolus coccineus* y fertilización orgánica e inorgánica. *Agrociencia*. 2007; 41(8):817-26.
- García-González MM, Farías-Rodríguez R, Peña-Cabriales JJ, Sánchez-Yáñez JM. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum spp.*, y *Azotobacter beijerinckii*. 2005. *Terra Latinoam*. 23 (1): 65-72.
- García-Hernández D, Sosa-Aguirre CR, Sánchez-Yáñez JM. Biorremediación de agua doméstica contaminada con aceite residual automotriz por bioestimulación. *Ing Hidraul Mex*. 2007. 22: 113-118.
- Hernández-Valencia L, Mager D. Uso de *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. *Bioagro*. 2003; 15(3): 149-56.
- Ighovie E, Edwin A. Management of Petroleum Impacted Soil with Phytoremediation and Soil Amendments in Ekpan Delta State, Nigeria. *J Environ Prot*. 2012; 3: 386-93.
- Larenas-Parada G, De Viana ML. Germinación y supervivencia del pasto cubano *Tithonia tubaeformis* (Asteraceae) en suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo. *Ecol Austral*. 2005; 15:(2) 177-81.
- Maldonado-Chávez E, Rivera-Cruz M, Izquierdo-Reyes F, Palma-López D. Efectos de rizósfera, microorganismos y fertilización en la biorremediación y fitorremediación de suelos con petróleos crudo nuevo e intemperizado. *Universidad y Ciencia*. 2010; 26(2):21-136.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021- RECNAT-2000. Diario Oficial de la Federación, 31 de diciembre de 2000.
- Ogbo E. Effects of diesel fuel contamination on seed germination of four crop plants-*Arachis hypogaea*, *Vigna unguiculata*, *Sorghum bicolor* and *Zea mays*. *Afr J Biotechnol*. 2009; 8(2): 250-3.
- Ogedegbe A, Uwaila B, Ikhajiagbe B, Anoliefo GO. Growth Response of *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze in a Waste Engine Oil-Polluted Soil. *JETEAS*. 2013; 4(2): 322-7.
- Pérez-Armendáriz B, Castañeda-Antonio D, Castellanos G, Jiménez-Salgado T, Tapia-Hernández A, Martínez-Carrera D. Efecto del antraceno en la estimulación del crecimiento en maíz y frijol. *Terra Latinoam*. 2011; 29(1): 95-102.
- Quiñones-Aguilar EE, Ferrera-Cerrato R, Gavi-Reyes F, Fernández-Linares L, Rodríguez-Vázquez R, Alarcón A. Emergencia y crecimiento de maíz en un suelo contaminado con petróleo crudo. *Agrociencia*. 2003; 37:585-94.
- Rivera-Cruz MC, Trujillo-Narcía A. Estudio de toxicidad vegetal en suelos con petróleos nuevo e intemperizado. *Interciencia*. 2004; 29(7): 369-76.
- Roselene H. A Study on Remediation of Polluted Water Using *Canna indica*. *Int J Res Rev*. 2014; 1(1): 1-15.
- Sangabriel W, Ferrera-Cerrato R, Trejo-Aguilar D, Mendoza-López MR, Cruz-Sánchez JS, López-Ortiz C, et al. Tolerancia y capacidad de fitorremediación de combustóleo en el suelo por seis especies vegetales. *Rev Int Contam Ambient*. 2006; 22(2): 63-73.
- Sharifi M, Sadeghi Y, Akbarpour M. Germination and growth of six plant species on contaminated soil with spent oil. *Int J Environ Sci Technol*. 2007; 4(4): 463-70.
- Shirdam R, Zand AD, Bidhendi GN, N Mehrdadi N. Phytoremediation of hydrocarbon-contamina

- ted soils with emphasis on the effect of petroleum hydrocarbons on the growth of plant species. *Phytoprotection*. 2008; 89(1): 21-9.
- Vallejo V, Salgado L, Roldan F. Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 2005; 7(2): 67-78.
- Zand AD, Bidhendi GN, Mehrdadi N. Phytoremediation of total petroleum hydrocarbons (TPHs) using plant species in Iran. *Turk J Agric For.* 2010; 34(5): 429-38.
-