
Biorremediación y fitorremediación de suelo impactado por 85,000 ppm de aceite residual automotriz

G. Santoyo-Pizano¹, A. Higareda-Rodríguez¹, L. Marquez-Benavidez², J.I. De la Cruz¹ y J. M. Sánchez-Yáñez^{1*}

¹Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.

² Medio Ambiente, Instituto de Investigaciones Agrícolas Pecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Mich, México

Bioremediation and phytoremediation of a soil impacted by 85,000 ppm of automotive waste oil.

Abstract

Soil polluted by 85,000 ppm of waste residual oil (WRO) is a mix of aliphatic, aromatic hydrocarbons, and some trace of heavy metals is causing soil's lost fertility and inhibits microbial heterotrophic aerobic activity related to organic matter mineralization. This WRO concentration is high according to Mexican environmental regulation known as a NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138), which establishes as a maximum permissible limit of 4,400 ppm. An alternative to solve this environmental problem are bioestimulation (BIS) and phytoremediation (PHYTO). The objectives of this research were: a) BIS of soil impacted by 85,000 ppm of WRO; b) PHYTO by *Phaseolus vulgaris* potencies with *M. echinospora* and / or *S. griseus* to reduce WRO at lower value than highest accepted by the NOM-138. In that sense BIS was measured at initial and final concentration of WRO; at PHYTO were regarded phenology: plant height and root length, as well as biomass aerial and root fresh and dry weight. Experimental data were analyzed by ANOVA / Tukey HSDP <0.05% with the Statgraphics Centurion statistical program. Results indicated that BIS of soil impact by 85,000 ppm of WRO until 29,000 ppm in 150 days, then PHYTO by *P. vulgaris* with *M. echinospora* and *S. griseus* decreased from 29,000 ppm until 1,492 ppm in 180 days. It's concluded that BIS and PHYTO of soil impacted by relative high concentration of WRO were adecuated NOM-138..

Key words: soil, WRO, mineral solution, *P. vulgaris*, *M. echinospora*, *S. griseus*, NOM-138.

Resumen

El suelo impactado por 85,000 ppm de aceite residual automotriz (ARA), es una mezcla de hidrocarburos alifáticos, aromáticos y trazas de metales pesados; que provocan la pérdida de fertilidad e inhiben la actividad microbiana, que en ese ambiente mineraliza la materia orgánica. Tal concentración del ARA, es relativamente alta acorde con la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138), cuyo límite máximo permitido es de 4,400 ppm. Una alternativa de solución ecológica es la bioestimulación (BIS) y fitorremediación (FITO), que decrecen el ARA hasta un valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138. Los objetivos del trabajo fueron: a) BIS de suelo impactado por 85,000 ppm de ARA; b) FITO mediante *Phaseolus vulgaris* potenciado con *Micromonospora echinospora* y/o *Streptomyces griseus* en la eliminación del ARA a un valor inferior al máximo reconocido por la NOM-138. En la BIS, la variable-respuesta fue la concentración inicial y final de ARA; en la FITO la fenología de *P. vulgaris*: altura de planta y longitud radical, la biomasa; peso fresco aéreo y radical; peso seco aéreo y radical a plántula. Los datos experimentales se analizaron por ANOVA/Tukey HSDP<0.05% con el programa estadístico Statgraphics Centurion. Los resultados indicaron que la BIS del

*Autor de correspondencia

Email: syanez@umich.mx

ISSN 2594-0384 (Electrónica)

suelo por 85,000 de ARA lo redujo hasta 29,000 ppm en 150 días; en la FITO mediante *P. vulgaris* con *M. echinospora* y/o *S. griseus* la disminuyeron hasta 1,492 ppm en 180 días. Se concluye que la BIS/FITO de suelo impactado por una relativa alta concentración de ARA, fue adecuada para reducirla a un valor menor al máximo reconocido por la NOM-138.

Palabras claves: Suelo, ARA, solución mineral, *P. vulgaris*, *M. echinospora*, *S. griseus*, NOM-138.

Introducción

El suelo contaminado por 85,000 ppm de aceite residual automotriz (ARA), es una mezcla de hidrocarburos alifáticos, aromáticos, policíclicos y trazas de elementos metálicos, derivado del uso de automotores de combustión interna y maquinaria industrial. En México un suelo con concentración de ARA de este nivel es un problema ambiental, pues está clasificado como un residuo peligroso según la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental (LGEEPA, 2014); especialmente en suelo donde la regulación mexicana al respecto conocida como NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138): establece como límite máximo permisible 4,400 ppm un valor total; dividido en la fracción ligera de 200 ppm; en la mediana de 1,200 ppm y de la pesada de 3,000 ppm. En el suelo 85,000 ppm causa un impacto negativo, en principio por la insolubilidad de la diversidad simple y compleja de la mezcla de hidrocarburos que, impide el intercambio gaseoso con la atmósfera, inhibe la mineralización de materia orgánica que provoca la pérdida de fertilidad y en consecuencia reduce la producción vegetal (Juárez-Cisneros y Sánchez-Yáñez, 2014, Burghal *et al.*, 2015). En el suelo una alternativa ecológica de solución al problema de ésta relativa elevada concentración del ARA, es la bioestimulación (BIS), de forma secuencial, complementaria y acumulativa dado que ésta mezcla es diversa en términos de la complejidad química, lo que hace necesario aplicar un estrategia integradora; en principio mediante un detergente que solubiliza la mayor parte de los hidrocarburos que lo componen; de una solución mineral que reequilibre la relación C (carbono): N (nitrógeno), provocada por el exceso de ARA en ese ambiente; así como de H₂O₂ (como una fuente disponible de O₂), que facilite su continua oxidación; que incluya un extracto fúngico crudo que contenga la enzima extracelular lacasa, que podría hidrolizar parcialmente la fracción aromática (Baltierra-Trejo

et al., 2016), y permita su posterior mineralización. En suelo para integrar estas múltiples acciones de BIS, es indispensable ajustar la humedad al 80 % de la capacidad de campo, lo cual podría inducir a la microbiota autóctona heterótrofa aerobia, una oxidación eficaz del ARA y concluirla por fitorremediación (FITO), con una leguminosa tolerante a los hidrocarburos del tipo: *Phaseolus vulgaris* potenciada mediante *Micromonospora echinospora* y/o *Streptomyces griseus*; géneros de actinomicetos señalados en la literatura con capacidad de oxidar algunos de los aromáticos existentes en el ARA (Solans y Vobis, 2003; Riojas-González *et al.*, 2010), y decrecer el ARA remanente a una concentración inferior a la máxima aceptada por la NOM-138. Con base a lo anterior, los objetivos de este trabajo fueron: i) BIS de suelo contaminado por 85,000 ppm de ARA, ii) FITO con *P. vulgaris* potenciado mediante *M. echinospora* y/o *S. griseus* para disminuir el ARA a un valor inferior al mayor permisible en la NOM-138.

Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en un invernadero bajo las siguientes condiciones microclimáticas promedio: temperatura de 23.2 °C, luminosidad de 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y humedad relativa del 67%. El suelo se tamizó con una malla del No. 20 y contaminó con 85,000 ppm de ARA proveniente de un taller mecánico automotriz de la ciudad de Morelia, Mich, México, para ello el ARA se emulsificó en agua con el detergente la “Corona®” al 0.5 % (p/v); luego un 1.0 Kg de este suelo con, se colocó en la parte superior de la jarra de Leonard mostrada en la figura 1, mientras que el recipiente soporte, se llenó con la solución mineral y/o agua en función del diseño experimental planteado (García-González *et al.*, 2005). El ensayo se inició con la: i) BIS secuencial del suelo impactado por ARA, con el detergente la “Corona®” al 0.5 % (p/v), luego la BIS fue complementada mediante una solución mineral cuya composición química fue la siguiente

(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 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; ajustada a pH 6.8-7.0; después la BIS se complementó con la adición de H_2O_2 al 0.5%; y un extracto fúngico crudo (EXFUCU); que contenía la lacasa para la degradación parcial de la fracción aromática del ARA. Para ello se cultivó *Penicillium chrysogenum* en la lignina residual de paja de trigo (LIREPATO); obtenida de la siguiente manera: 100 g de paja de trigo seca, se molieron y tamizaron en una malla de 0.0841 mm; que luego se trató con $\text{CH}_3\text{-COOH}$ (ácido acético) al 10%/30 min en proporción 1:2 (p/v), después la mezcla se neutralizó con NaOH al 10%; y se sometió a autoclave a $120^\circ\text{C}/60$ min, posteriormente se lavó con agua destilada a pH 7.0; y finalmente se secó a $70^\circ\text{C}/24$ h. Para la generación del EXFUCU se usaron 12.5 mL *P. chrysogenum* que se sembraron en un matraz de 500 mL con 250 mL de caldo LIREPATO cuya contenido fue (g/L): LIREPATO 10.0; peptona de caseína 5.0 ; extracto de levadura 1.3 ; K_2HPO_4 0.17; KH_2PO_4 2.61; MgSO_4 1.5; NaCl 0.9 ; CuSO_4 0.05; 2.5 mL del detergente la Corona® al 10% (p/v), y 1.0 mL/L de una solución de oligoelementos, ajustado a pH a 5.5 que esterilizó

a $121^\circ\text{C}/20\text{min}$ (Baltierra-Trejo et al., 2016). El matraz con *P. chrysogenum* se incubó a $30^\circ\text{C}/12$ días, después de lo cual el medio de cultivo se filtró y centrifugó para el eliminar el hongo, y posteriormente se usaron 100 mL de EXFUCU/Kg de suelo impactado por el ARA, cada semana hasta iniciar la FITO (Saucedo-Martínez et al., 2016). En tanto que en el suelo la humedad se controló al 80 % de la capacidad de campo, esto favoreció la integración de la acciones de BIS que decrecieron el ARA remanente para la siguiente etapa; ii) FITO mediante *P. vulgaris* potenciado con *M. echinospora* y/o *S. griseus*; ambos actinomicetos (aislados de nódulos de *Medicago sativa*), se reprodujeron en agar avena (AA) con la siguiente composición (g/L): avena 30.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0; $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ 1.5; Tecto al 10% 1.0; Agar 18.0; pH 6.8, se incubaron a $30^\circ\text{C}/72$ h. Para potenciar la leguminosa con los actinomicetos se realizó lo siguiente operación: por cada 20 semillas de *P. vulgaris* se inocularon con 1.0 mL de cada género de actinomiceto crecido en agar AA, a una concentración celular de ambos, que se ajustó a la solución patrón No.2 del nefelómetro de McFarlad, con un 1.0 mL del detergente al 10% se diluyó en 99.0 mL de NaCl 0.85%; para facilitar la completa homogenización y alcanzar una concentración

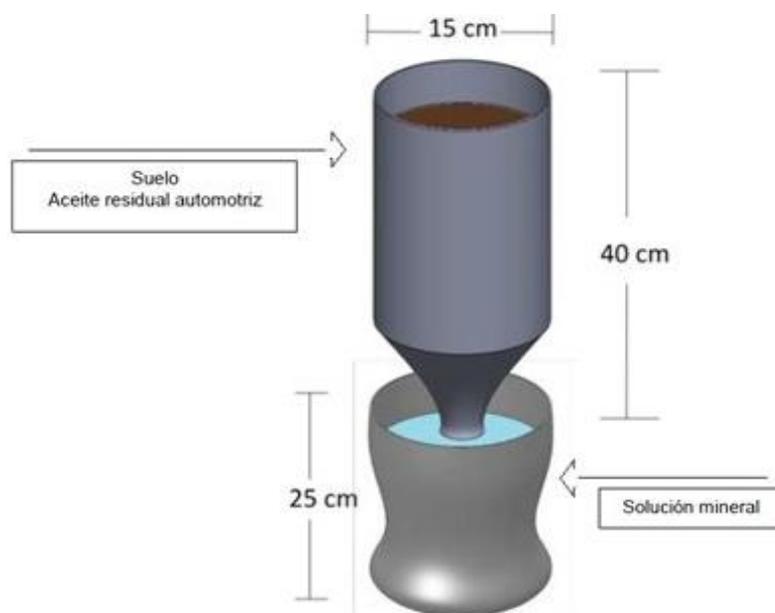


Figura 1. Diagrama de la Jarra de Leonard (García-González et al., 2005).

celular de 1.5×10^8 UFC/g; de *M. echinospora* y *S. griseus* mezclados en una relación 1:1 (v/v) (García-González et al., 2005) y continuar con el diseño experimental mostrado en la tabla 1 de bloques al azar con: 3 controles: suelo sin ARA irrigado solo con agua o control absoluto (CA); el suelo impactado por ARA sin bioestimar, ni fitorremediar o control negativo (CN); el suelo sin contaminar por ARA alimentado con la solución mineral o control relativo (CR), y los 4 tratamientos para la fase de FITO a) suelo impactado por ARA bioestimulado y fitorremediado con *P. vulgaris* sin potenciar mediante *M. echinospora* y/o *S. griseus*, b) *P. vulgaris* potenciado con *M. echinospora* sembrado en suelo impactado por ARA c) *P. vulgaris* potenciado mediante *S. griseus* sembrado en suelo impactado por ARA d) *P. vulgaris* potenciado con *M. echinospora* y *S. griseus*

sembrado en suelo impactado por ARA. Los valores numéricos de los experimentos se analizaron mediante ANOVA/Tukey HSD $P < 0.05\%$ con el programa estadístico Statgraphics Centurión.

Resultados y discusión

La BIS de suelo impactado por ARA se muestra en la tabla 2, con el detergente, una solución mineral, el H_2O_2 y el extracto fúngico crudo, con el 80% de la capacidad de campo durante 150 días. En ese suelo la concentración inicial de ARA fue de 85,000 ppm que decreció hasta 29,000 ppm, ambos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes, comparados con los valores análogos en el suelo impactado por ARA sin BIS o CN, ahí la atenuación natural redujo el ARA desde 85,000 ppm hasta 59,500 ppm.

Tabla 1. Diseño experimental de la bioestimulación del suelo contaminado por 85,000 ppm de aceite residual automotriz con un detergente, solución mineral, H_2O_2 , extracto fúngico crudo y la fitorremediación mediante *Phaseolus vulgaris* con *Micromonospora echinospora* y *Streptomyces griseus*.

Suelo*	Aceite residual automotriz 85000 ppm	Bioestimulación t = 150 días			Fitorremediación t = 180 días	
		Solución mineral (SOMI)	Detergente + SOMI	H_2O_2	Extracto fúngico crudo	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Control absoluto sin ARA, solo agua (CA)	-	-	-	-	-	-
Control relativo sin ARA y solución mineral (CR)	-	100%	+	+	+	+
Control negativo con ARA, sin BIS ni FITO o (CN)	+	-	-	-	-	-
<i>Phaseolus vulgaris</i> sin inocular con actinomicetos	+	50%	+	+	+	+
<i>P. vulgaris</i> con:						
a) <i>M. echinospora</i>	+	50%	+	+	+	+
b) <i>S. griseus</i>	+	50%	+	+	+	+
c) <i>M. echinospora</i> / <i>S. griseus</i>	+	50%	+	+	+	-

(+) = agregado; (-) = no agregado; *n = 6

Tabla 2. En suelo concentración de aceite residual automotriz bioestimulado con detergente, solución mineral, H_2O_2 y extracto fúngico crudo durante 90 días.

Suelo** +	En suelo concentración de aceite residual automotriz después de 150 días de bioestimulación (ppm)
85,000 ppm de aceite residual automotriz	
Sin bioestimar (control negativo)	59,500 ^b *
Suelo bioestimulado con detergente 0.5% + solución mineral + H_2O_2 0.5% + extracto fúngico crudo	29,000 ^a

*Letras distintas son estadísticamente diferentes (ANOVA/Tukey HSD $P < 0.05\%$) **n=6

La fenología y biomasa de *P. vulgaris* potenciado mediante *M. echinospora* y *S. griseus* a nivel de plántula, durante la FITO de suelo contaminado por 29,000 ppm de ARA se muestra en la tabla 3, ahí *P. vulgaris* alcanzó una altura de planta (AP) de 15.32 cm y una longitud radical (LR) de 14.25 cm, estos valores numéricos no tuvieron diferencia estadística comparados con los 15.67cm de AP y 15.25 cm de LR de *P. vulgaris* alimentado con un solución mineral, sin potenciar con *M. echinospora* y *S. griseus* sembrado en suelo sin ARA. Pero si mostraron diferencia estadística comparados con los valores de 13.15 cm de AP y 7.60 cm de LR de *P. vulgaris*, sin potenciar con estos actinomicetos promotores de crecimiento vegetal, sembrado en

alimentado con una solución mineral sembrado en suelo sin impactar por el ARA o CR; respecto al peso seco aéreo (PSA) fue 0.19g en *P. vulgaris* potenciado con *M. echinospora* y *S. griseus* sembrado en suelo impactado por el ARA; cuyo valor numérico no tuvo diferencia estadística con los 0.23g de PSA de *P. vulgaris* alimentado con la solución mineral, sin potenciar mediante *M. echinospora* y *S. griseus* sembrado en suelo sin contaminar por el ARA, empleado como CR. Mientras que se registró 0.10g de peso seco radical (PSR) en *P. vulgaris* potenciado con *M. echinospora* y *S. griseus*, sembrado en el suelo impactado por el ARA; este valor numérico fue estadísticamente diferente a los 0.06g de PSR de *P.*

Tabla 3. Fenología y biomasa de *Phaseolus vulgaris* potenciado con *Micromonospora echinospora* y *Streptomyces griseus* en la fitorremediación de suelo impactado por 29,000 ppm de aceite residual automotriz.

Suelo con <i>Phaseolus vulgaris</i> **	Altura de planta (cm)	Longitud radical (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			aéreo	Radical	Aéreo	Radical
Sin ARA (control absoluto)	10.60 ^{ct}	9.23 ^c	0.75 ^e	0.31 ^e	0.09 ^c	0.03 ^t
Sin ARA alimentado + solución mineral (control relativo)	15.67 ^a	15.25 ^a	1.96 ^a	0.89 ^b	0.23 ^a	0.06 ^c
**29,000 ppm de ARA + solución mineral + H ₂ O ₂ + <i>P. vulgaris</i> sin inocular	13.15 ^b	7.60 ^e	1.30 ^b	0.49 ^d	0.13 ^b	0.04 ^e
29,000 ppm de ARA + solución mineral + H ₂ O ₂ + <i>M. echinospora</i>	9.26 ^e	7.95 ^e	0.89 ^d	0.75 ^c	0.13 ^b	0.07 ^b
29,000 ppm de ARA + solución mineral+ H ₂ O ₂ + <i>S. griseus</i>	10.18 ^d	8.67 ^d	1.06 ^c	1.06 ^a	0.14 ^b	0.05 ^d
29,000 ppm de ARA + solución mineral + H ₂ O ₂ + <i>M. echinospora</i> + <i>S. griseus</i>	15.32 ^a	14.25 ^b	1.86 ^a	1.18 ^a	0.19 ^a	0.10 ^a

*letras iguales= sin diferencia estadística según Tukey (0.05), **n=6.

suelo impactado por el ARA. En tanto que *P. vulgaris* en suelo sin ARA, se registró un peso fresco aéreo (PFA) de 1.96 g en *P. vulgaris* usado como CR, valor numérico sin diferencia estadística a los 1.86g de PFA en *P. vulgaris* potenciado con la mezcla de *M. echinospora*/*S. griseus* en suelo impactado por el ARA; ambos valores numéricos de PFA fueron estadísticamente diferentes a los 1.30g de PFA en sin potenciar con los actinomicetos, sembrado en suelo contaminado por ARA. Respecto al peso fresco radical (PFR) se registraron 1.18g en *P. vulgaris* potenciado mediante *M. echinospora* y *S. griseus*; cuyo valor numérico fue estadísticamente diferente a los 0.89g de PFR en *P. vulgaris* sin potenciar con estos actinomicetos,

P. vulgaris sin potenciar con *M. echinospora* y *S. griseus* sembrado en suelo no impactado por el ARA o CR.

En la tabla 4 se muestra en suelo la concentración de ARA después de la FITO por *P. vulgaris* potenciado mediante *M. echinospora* y *S. griseus*; en donde se detectó la mayor eliminación del ARA, desde 29,600 ppm hasta 1,492 ppm; valor inferior a la máximo permitido por la NOM-138, este valor numérico de concentración final del ARA, fue estadísticamente diferente al registrado en el suelo usado como CN; ahí la mezcla de hidrocarburos, se redujo desde 85,000 ppm hasta 59,500 ppm derivado de la acción de la atenuación natural.

Tabla 4. En suelo concentración de aceite residual automotriz durante la bioestimulación y fitorremediación mediante *Phaseolus vulgaris* con *Micromonospora echinospora* y *Streptomyces griseus*.

Suelo**	ARA remanente en suelo (ppm)
Suelo con ARA sin bioestimar (control negativo)	59,500 ^{ab}
Suelo con ARA bioestimulado con detergente + solución mineral + H ₂ O ₂ + extracto fúngico crudo	29,600 ^e
Suelo con ARA bioestimulado y fitorremediado solo <i>Phaseolus vulgaris</i>	19,500 ^d
Suelo con ARA fitorremediado con <i>P. vulgaris</i> en plántula potenciado con:	
<i>Micromonospora echinospora</i>	7,300 ^e
<i>Streptomyces griseus</i>	6,890 ^b
<i>M. echinospora</i> + <i>S. griseus</i> .	1,450 ^{ab}

*Letras distintas son estadísticamente diferentes (ANOVA/Tukey HSDP<0.05%) **n = 6, += valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 de 4400 ppm.

Discusión

La BIS del suelo mediante un detergente que eficazmente disolvió la mayor parte de los alifáticos del ARA (Tabla 2) (Mohamed y Mahfoodh, 2006; Burghal *et al.*, 2015), seguida de la BIS con la solución mineral que aportó las sales esenciales de NH₄⁺ y NO₃⁻ para ajustar desequilibrio C:N causada por el exceso de ARA; mientras que los PO₄⁺³ (fosfatos) solubles aceleraron la eliminación del ARA, apoyado por la BIS mediante el H₂O₂ que suplió el O₂ indispensable en la continua oxidación de esos hidrocarburos (Riojas-González *et al.*, 2010), en tanto que la BIS mediante el extracto fúngico crudo que contenía la lacasa se sugiere fue útil en degradación algunos de los aromáticos del ARA (Baltierra-Trejo *et al.*, 2016); y que posteriormente se mineralizaron en productos inocuos: CO₂ y H₂O. Para lograr las acciones integrales de la BIS, fue indispensable el ajuste de la humedad del suelo al 80% de la capacidad de campo del 80%, lo cual facilitó la circulación del agua y gases a través de los poros del suelo, con la consecuente mejor mineralización del ARA, cuyo proceso es estrictamente aeróbico. Lo que explica porque en un tiempo relativamente corto de 150 días la concentración, se redujo desde 85,000 ppm hasta 29,000 ppm como resultado de la BIS secuencial, complementaria y acumulativa por las acciones de BIS que se señalaron previamente (Pinto *et al.*, 2007; Burghal, *et al.*, 2015).

En la tabla 3 se presenta la FITO del suelo contaminado por 29,000 ppm de ARA, que se demostró por los valores de las variables respuesta en la fenología y biomasa de *P. vulgaris* que fue potenciado mediante la actividad benéfica de *M.*

echinospora y *S. griseus*: lo que sugiere que ambos géneros de actinomicetos transformaron los exudados de la semilla y de las raíces en sustancias promotoras de crecimiento vegetal, que mejoraron la capacidad de tolerar algunos de los efectos fitotóxicos de los hidrocarburos del ARA (Hernández-Valencia y Mager, 2003; Solans & Vobis, 2003). Además de que la literatura apoya que tanto *M. echinospora* como *S. griseus* podrían degradar ciertos aromáticos del ARA lo que contribuyó a decrecer la concentración del ARA a un valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138 (Pérez-Armendariz *et al.*, 2011), en contraste *P. vulgaris* sin potenciar con estos géneros de actinomicetos, o solo con un tipo como fue el caso de *M. echinospora* o *S. griseus* sugieren dos principales razones: una que el metabolismo de cada uno de los géneros de actinomicetos, se complementan para evitar que los hidrocarburos del ARA sean fitotóxicos para *P. vulgaris*, por lo que cuando ambos no estaban en la planta (B), la raíz fue incapaz de eliminarlos a un nivel inferior al máximo valor aceptado por la NOM-138, y la segunda que por causa de la hidrofobicidad del ARA, se impidió la absorción de agua y el intercambio de gases en el sistema radical, en consecuencia hubo una inhibición del crecimiento de las raíces de *P. vulgaris* (Cubillos *et al.*, 2014; Juárez-Cisneros y Sánchez-Yáñez, 2014).

la BIS de suelo impactado por 85,000 ppm de ARA, mediante un detergente que emulsificó la mayor parte de la mezcla de hidrocarburos (Tabla 4), con una solución mineral que promovió su oxidación, apoyado por el H₂O₂ como un fuente mediata de O₂ y el extracto fúngico crudo que contenía la casa decreció parte la fracción aromática del ARA, y el

control de la humedad del suelo generaron las condiciones ambientales para que la microbiota autóctona heterotrófica aerobia haya decrecido el ARA hasta 29,000 ppm; lo que facilitó la FITO mediante *P. vulgaris* con *M. echinospora* y *S. griseus* que aceleraron la mineralización del ARA hasta una concentración de 1,492 ppm puesto que al hacer el análisis de lo que desapareció en la mezcla de hidrocarburos tanto la fracción alifática como aromática había decrecido a un valor inferior al mayor aceptado por la NOM-138 para considerar que el suelo fue biorremediado (Pinto *et al.*, 2007; Cubillos *et al.*, 2014).

Conclusiones

Los resultados de esta investigación mostraron que la BIS de un suelo impactado por una relativa elevada concentración de ARA de 85,000 ppm; fue reducida mediante un combinación de acciones secuenciales, complementarias y acumulativas que lo redujeron hasta 29,000 ppm, complementada por la FITO mediante *P. vulgaris*, una leguminosa que mejoró su capacidad fitodegradadora del ARA, al ser potenciada por *M. echinospora* y *S. griseus*, al disminuir el valor de la mezcla de hidrocarburos hasta 1,492 ppm, un valor inferior al máximo permisible por la NOM-138. Con base en lo anterior la BIS y FITO fue una opción ecológica para remediar un suelo impactado por una relativa alta concentración de ARA.

Agradecimiento

CIC-UMSNH proyecto 2.7 (2018), BIONUTRA S.A de C.V, Maravatío y el Laboratorio de Edafología de la facultad de Biología de la UMSNH. Mich. México.

Referencias

Baltierra-Trejo, E., Silva-Espino, E., Márquez-Benavides L. Sánchez-Yáñez, J. M. 2016. Inducción de la degradación de lignina de paja de trigo en aromáticos por *Aspergillus* spp. y *Penicillium chrysogenum*. Journal of the Selva Andina Research Society, 7(1):10-19. DOI: 10.4067/S2072-92942016000100003

Burghal, A.A., Al-Mudaffarand, NA Mahi, K.H. 2015. Ex situ bioremediation of soil contaminated with crude oil by use of actinomycetes consortia for process bioaugmentation. European Journal of Experimental Biology. 5(5):24-30.

Cubillos, J., Pulgarín, P., Gutierrez, J., Paredes, D. 2014. Fitorremediación en aguas y suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Ingeniería y competitividad.

16(1):131-146, ISSN: 0123-3033. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=291331195011>

García-González MM, Fariás-Rodríguez R, Peña-Cabrales JJ, Sánchez-Yáñez JM. 2005. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. Terra Latinoamericana 23(1):65-72, ISSN: 2395-8030. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/573/57323109.pdf>

Hernández-Valencia, I., Mager, D. 2003. Uso de *Panicum máximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. Bioagro 15(3):149-155, DOI: 10.4067/S1316-33612003000300001.

Juárez-Cisneros G., Sánchez-Yáñez. 2014. Biorrestauración de suelo contaminado con aceite residual automotriz por bioestimulación con lombricomposta y fitorremediación con *Sorghum vulgare* inoculado con *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli*. Journal of the Selva Andina Biosphere. Bolivia. 2(1):15-22. ISSN-e: 2308-3859. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5114749>

LGEEPA (2017) "Ley general del equilibrio ecológico y la protección al ambiente". Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión, Última reforma DOF 24/01/2017, México, D. F., Disponible en: http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/148_240117.pdf

Mohamed, A., A.M. Mafoodh. (2006). Solubilization of naphthalene and pyrene by sodium dodecylsulfate (SDS) and polyoxyethylenesorbitan monooleate (Tween 80) mixed micelles. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 287:44-50, DOI: 10.1016/j.colsurfa.2006.03.036

Norma oficial mexicana. NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificación para la remediación. México. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5313544&fecha=10/09/2013

Pérez-Armendáriz, B., Castañeda-Antonio, D., Castellanos, G., Jiménez-Salgado, T., Tapia-Hernández, A., Martínez-Carrera, D. 2011. Anthracene effect on stimulation of growth of maize and kidney bean. Terra Latinoamericana. 29(1): 95-102, ISSN: 2395-8030. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57319955010>

Pinto M. A., Gerales K. A., De Franceschi D. D., Marcos B. D. 2007. Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. Brazilian Journal of Microbiology 38(2):346-353, DOI: 10.1590/S1517-83822007000200030

Riojas-González, H. H., Torres-Bustillos, L. G., Mondaca-Fernández, I., Balderas-Cortés J.J & Gortares-Moroyoqui, P. 2010. Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Revista Química Viva 3:120-145, ISSN: 1666-7948. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86315692003>

Solans, M., Vobis, G. 2003. Actinomycetes saprofíticos asociados a la rizósfera y rizoplasma de *Discaria trinervis*. Ecología austral 13(1): 97-107, DOI: 10.4067/S1667-782X2003000100009.