



JOURNAL OF THE
Selva Andina
Research Society.
Official Journal of the Selva Andina Research Society.

Artículo Original

ISSN 2072-9294 (print edition)

JSARS

ISSN 2072-9308 (online edition)

Bioestimulación de suelo contaminado con 10000 ppm de aceite residual automotriz y fitorremediación con *Cicer arietinum* potenciado con *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli*
Biostimulation of soil polluted 10000 ppm of waste motor oil and phytoremediation with *Cicer arietinum* improved by *Bacillus cereus*/*Rhizobium etli*

Juárez-Cisneros Gladys¹, Hernández-Escareño Jaime Jesús², Nevárez-Moorillón Guadalupe Virginia³, 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.

²Microbiología y Micología Veterinaria Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ex. Hacienda Escobedo, N. L. México.

³Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, Chih, 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 :syanez@umich.mx

Palabras clave:

ARA,
mineral,
fitodegradación,
BPCV,
mineralización.

J. Selva Andina Res. Soc.
2016; 7(2):66-74.

Historial del artículo.

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

Editado por:
Selva Andina
Research Society

Resumen

La contaminación de suelo con aceite residual automotriz (ARA) disminuye su productividad. Una alternativa para su eliminación es la bioestimulación (BS) con un abono animal y posterior fitorremediación (FR) con una leguminosa potenciada con bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), para reducirlo a nivel inferior al límite máximo permisible de 4400 ppm de acuerdo con la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (NOM-138). Los objetivos de este trabajo fueron: i) bioestimulación de un suelo contaminado con 10000 ppm de ARA con lombricomposta y ii) ulterior Fitorremediación con *Cicer arietinum* y *Bacillus cereus* /*Rhizobium etli*. En la BS del suelo la variable respuesta fue la concentración del ARA, mientras en la FR la fenología y biomasa de *C. arietinum* y la concentración del ARA remanente. Los resultados mostraron que en suelo la BS con lombricomposta al 3% en 3 meses el ARA se redujo a 1370 ppm. En tanto que la FR con *C. arietinum* y *R. etli*, redujo el ARA hasta 30 ppm ambos valores inferiores al máximo permitido por la NOM-138. Lo anterior apoya que en suelo contaminado con ARA, la mejor opción de biorrestauración, es la estrategia integral BS y FR potenciada con géneros de BPCV.

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

Abstract

Soil pollution by waste motor oil (WMO) is reducing its productivity. An alternative for removing WMO from soil is by biostimulation (BIS) applying animal manure and then phytoremediation (PR) by legume improving with plant growth promoting bacteria (PGPB) to reduce WMO concentration at level below 4400 ppm limit permit for the NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (NOM-138). The aims of this research were: i) to analyze soil biostimulation polluted by 10000 ppm of WMO applying vermicompost, then subsequent soil phytoremediation with *Cicer arietinum* inoculated by *Bacillus cereus* and/or *Rhizobium etli*. In soil after applying BS by VC was measured WMO soil concentration and ii) for PR was regarded phenology and biomass of *C. arietinum* and WMO concentration remaining at the end of this step. The results showed that soil biostimulated by VC, WMO was reduced at 1370 ppm, subsequent PR sowing *C. arietinum* with *R. etli*, WMR was reduced at 30 ppm concentration both values below to maximum value accepted by NOM-138. Those data indicate that in soil polluted by

Key words:WMO,
minerals,
phytodegradation,
PGPB,
mineralization.

WMO the best way to biorecovery soil was to integrate strategy BS/PR the last one improved by genus of PGPB.

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

Introducción

La contaminación del suelo por hidrocarburos (HC) del petróleo como el aceite residual automotriz (ARA). El ARA es una mezcla de moléculas insolubles de HC: alifáticos, aromáticos, policíclicos, y metales pesados que en el suelo inhiben la mineralización de la materia orgánica, impiden el intercambio gaseoso y causan un efecto negativo en la vida microbiana y vegetal (Vallejo *et al.* 2005, Benavides *et al.* 2006, Delgadillo *et al.* 2011). En México el ARA es considerado un residuo peligrosos por tanto un problema económico ambiental, según Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental (LGEEPA, 1998) y en el caso de las mezclas de HC en el suelo, la NOM-138-SEMAR NAT/SSA1-2012 (NOM-138) establece que el límite máximo total es de 4400 ppm/Kg. En suelo contaminado con ARA una alternativa de solución ecológica para reducir la concentración de esta mezcla a un nivel inferior al máximo de la NOM-138; son la bioestimulación (BS) y la fitorremediación (FR) ambas estrategias biológicas de limpieza ambiental. Al respecto en suelo para eliminar el impacto negativo de mezclas de HC, análogos a los del ARA, indican que una sola estrategia no es suficiente para que la concentración final remanente se inferior al máximo permitido por la NOM-138. Ese es el caso de Larenas & Viana (2005) reportaron la FR de un suelo contaminado con 55000 ppm de HC del petróleo mediante *Tithonia tubaeformis*, que decreció apenas en un 51% equivalente a 25250 ppm valor muy superior al límite máximo aceptado por la NOM-

138. En tanto Sangabriel *et al.* (2006), reportaron la fitorremediación de un suelo contaminado con 50000 ppm de combustóleo con 3 gramíneas: un híbrido de *Brachiaria brizantha*, con *Panicum maximum* y *Phaseolus coccineus*. Los resultados mostraron que la FR de ese suelo con estas plantas disminuyó el total del combustóleo a valores de entre 30-40% en 90 días, concentraciones todavía altas en referencia al valor máximo aceptado por la NOM-138. No obstante lo anterior indica que ciertos géneros plantas tienen capacidad para fitodegradar HC, siempre y cuando se potencien o mejoren con BP CV que ayuden a acelerar y reducir la concentración final de esos HC a un valor menor al máximo permitido por la NOM-138. Una opción para lograr la remediación de suelo impactado con ARA o HC análogos, es la BS con un abono animal como la lombricomposta (LC), que lo enriquece con materia orgánica de fácil degradación y minerales básicos para inducir a las poblaciones nativas microbianas aerobias heterotróficas, a la eliminación parcial del ARA y posteriormente por FR mediante *C. arietinum* (Larenas & Viana 2005, Maldonado-Chávez *et al.* 2010, Gogoz *et al.* 2010). Mientras que la capacidad de *C. arietinum* para mineralizar HC puede ser potenciada con *Bacillus cereus* y *Rhizobium etli* géneros de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV), ampliamente conocidas por convertir exudados radicales en sustancias promotoras de crecimiento vegetal (SPCV); además de que están reportadas como oxidantes HC aromáticos

análogos a los detectados en el ARA, mediante estas acciones facilitan la mineralización de esta mezcla de HC en la rizosfera de *C. arietinum* (Mrozik 2003, Simarro *et al.* 2013, González-Paredes *et al.* 2013). Con base en lo anterior los objetivos de esta investigación fueron: i) la bioestimulación de un suelo contaminado por 10000 ppm de ARA con lombricomposta y posterior ii) fitorremediación mediante *Cicer arietinum* potenciada con *B. cereus/R. etli* para disminuir el ARA a una concentración inferior al máximo valor permisible de la NOM-138-SEMAR NAT/SS-2003.

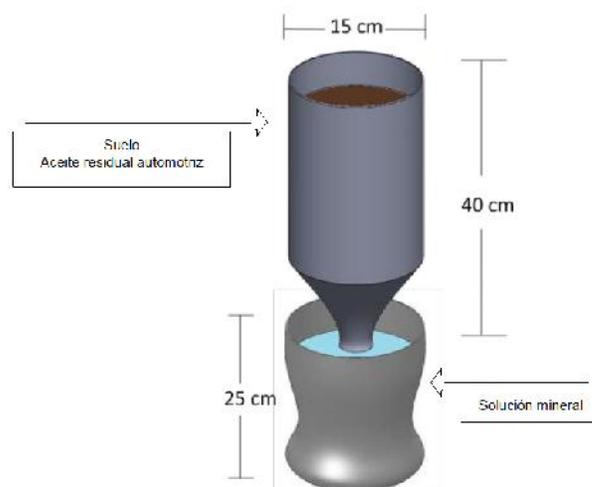
Materiales y métodos

El experimento se realizó en invernadero con un diseño experimental de bloques al azar de 9 tratamientos y 5 repeticiones. Para el ensayo se usó un suelo ubicado a los 19° 39' 27'' de latitud norte 100° 19' 59'' de longitud oeste, con una altitud de 1820 msnm clima templado en un terreno agrícola denominado "La cajita" en la Tenencia Zapata del municipio de Morelia, Mich., México sobre el km 5 de la carretera Morelia-Pátzcuaro, México. El suelo fue clasificado como laterítico sódico degradado y compacto, con un historial agrícola de 20 años de un sistema de cultivo intensivo cereal-cereal (maíz-trigo y maíz-cebada), de textura arcillosa, con un contenido de materia orgánica de 1.5% y nitrógeno (N) orgánico de 39 Kg/ha, es decir pobre para ambas propiedades químicas, con un pH 6.7 ligeramente ácido. Entonces el suelo se contaminó con 10000 ppm de ARA proveniente de un taller mecánico, disuelto en un detergente comercial al 0.1%. Finalmente la concentración del ARA en el suelo se midió por el método de Soxhlet.

Este suelo se colocó en un sistema hidropónico de jarras de Leonard mostrado en la Figura 1 (García-

González *et al.* 2005), el experimento se realizó en dos etapas: fase 1 BS de suelo contaminado con 10000 ppm de ARA con LC al 3 y 6% (p/p) en tanto que la humedad se conservó a capacidad de campo con agua potable, después de 30 días se colectaron 15.0 g y cuantificó la concentración del ARA por Soxhlet (García-Hernández *et al.* 2007).

Figura 1 Sistema hidropónico de Jarra de Leonard para la bioestimulación y fitorremediación de suelo contaminado con 10000 ppm de aceite residual automotriz (García-González *et al.* 2005)



En la fase 2 luego de la BS del suelo contaminado con el ARA. Posteriormente se aplicó la FR para minimizar el ARA remanente con *C. arietinum* potenciado con *B. cereus/R. etli*, ambas BPCV fueron aisladas de raíces de *Zea mays* sp., mexicana. Por ello *B. cereus* se cultivó en caldo nutritivo (g/L): peptona de carne 8.0, extracto de carne 4.0 pH ajustado a 7.0 (Bioxon^R) y *Rhizobium etli* en caldo extracto de levadura manitol Rojo Congo (g/L): Manitol 10.0, K₂HPO₄ 0.5, MgSO₄ 0.2, rojo congo solución 1:400 10.0 mL, NaCl 0.1, extracto de levadura 10.0, agar (solo para el sólido) 18.0, agua destilada 1000 mL, pH 7.0 ± (Sánchez-Yáñez 2007). Se aplicaron 40 x 10⁵ UFC de cada uno/semilla de *C. arietinum* que se sembró en el suelo previamente bioes-

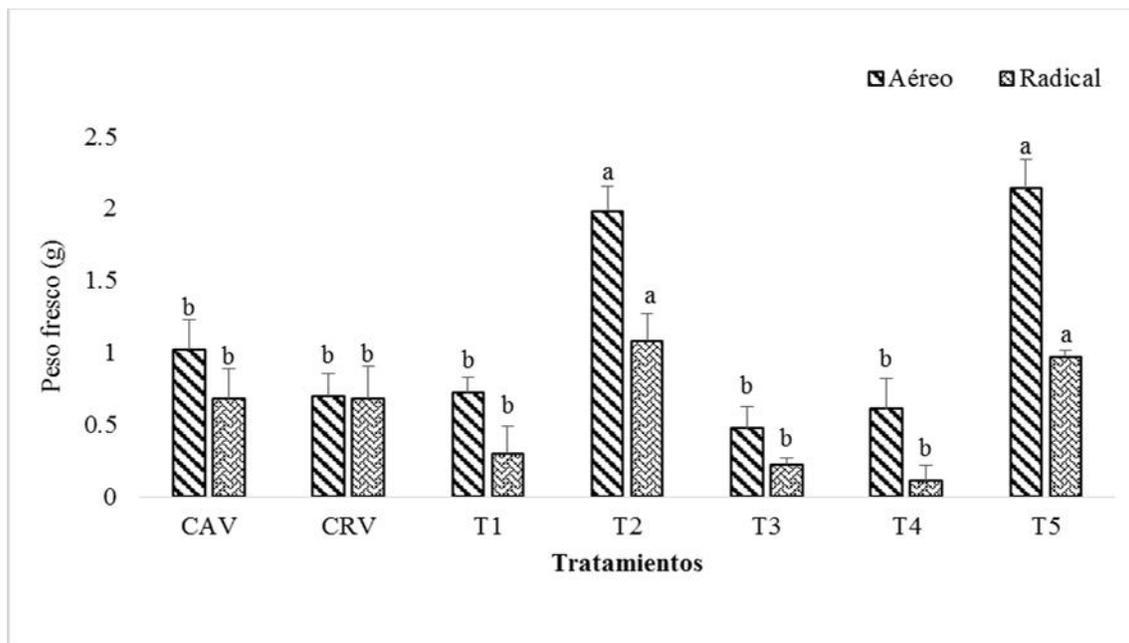
timulado con la LC. *C. arietinum* se alimentó con una solución mineral (SM) (g/L): NH₄Cl 12.0, KH₂PO₄ 3.0, K₂HPO₄ 3.5, MgSO₄ 1.5, CaCl₂ 0.1, FeSO₄ 0.5 mL, una solución de oligoelementos 1.5 mL/L, el pH se ajustó a 6.4-6.7 (García-Hernández *et al.*, 2007) Durante la FR del suelo impactado con ARA se midió la fenología y biomasa de *C. arietinum* a floración, de nuevo determino la concentración del ARA por Soxhlet (Vásquez *et al.* 2010). Todos datos experimentales se analizaron por ANOVA y

Tukey con $\alpha=0.05$ software JMP ver.6.0 (Walpole *et al.* 2007).

Resultados

En la figura 2 se muestra el peso fresco aéreo (PFA) y peso fresco radical (PFR) del *C. arietinum* en el suelo bioestimulado previamente con LC al 6% en T2 (sin inocular con BPCV) y T5 potenciado con *R. etli* para disminuir el ARA remanente.

Figura 2 Peso fresco de *Cicer arietinum* en floración, en la fitorremediación de suelo contaminado con 10000 ppm de aceite residual automotriz



Control absoluto vegetal (CAV)= suelo sin aceite residual automotriz (ARA), *C. arietinum*+ agua.
 Control relativo vegetal (CRV)=suelo sin ARA + *C. arietinum*+ solución mineral (SM).
Tratamiento (bioestimulación y fitorremediación) (T1)= suelo + aceite residual automotriz (ARA) + lombricomposta (LC) 6%+ *C. arietinum* + *Bacillus cereus* + *Rhizobium etli*.
Tratamiento (T2)= suelo + ARA + LC 6%+ *C. arietinum*; **Tratamiento (T3)** =suelo + ARA + LC 3% + *C. arietinum* + *B. cereus*+ *R. etli*.
Tratamiento (T4)= suelo + ARA + LC 3% + *C. arietinum*; **Tratamiento (T5)**=suelo + ARA + *C. arietinum* + *R. etli*; * ANOVA (p 0.05).
 *Letras distintas con diferencia estadística significativa (Tukey)

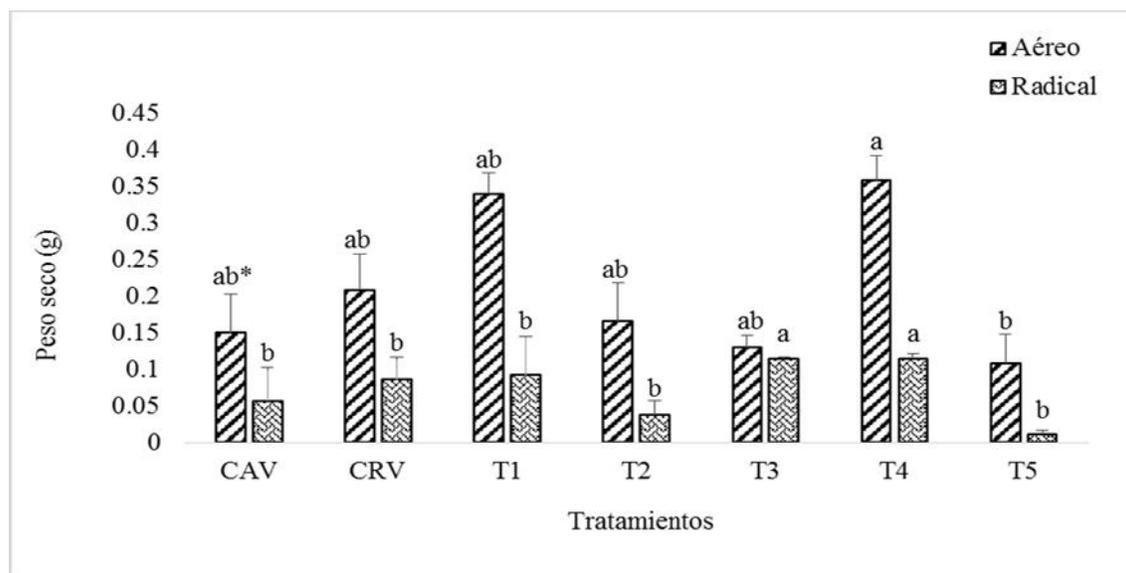
En ambos casos se registró el mayor PFA y PFR comparado con las mismas variables-respuesta en el *C. arietinum* crecido en este suelo sin ARA alimentado con una solución mineral o control relativo (CR). En esta figura en el suelo codificado como:

T1, T3 y T4 el PFA y el PFR de *C. arietinum* registraron valores numéricos que fueron estadísticamente iguales a los homólogos en el *C. arietinum* (CR). En el suelo con ARA la BS con la LC, se indujo su degradación parcial mientras con la siembra de *C.*

arietinum se intentó reducir el ARA remanente a valor menor al máximo permitido por la NOM-138. En la figura 3 se muestra el peso seco aéreo (PSA) y peso seco radical (PSR) de *C. arietinum* sembrado para fitorremediar ese suelo con ARA; sin o con previa BS con LC. En esta figura se registró que la BS del suelo con ARA mediante LC al 3 o 6%, an-

tes de la siembra de *C. arietinum* para concluir su FR, decreció la concentración del ARA, con un crecimiento sano, pues en el valor del PSA como en el PSR no hubo diferencia estadística basado en las mismas variables respuesta; a lo registrado en *C. arietinum* cultivado en el suelo sin ARA, alimentado con una SM no inocular con las BPCV.

Figura 3 Peso seco de *Cicer arietinum* a floración, en la fitorremediación de suelo contaminado con 10000 ppm de aceite residual automotriz



Control absoluto vegetal (CAV)= suelo sin aceite residual automotriz (ARA) + *C. arietinum* + solo agua.

Control relativo vegetal (CRV)= suelo sin ARA + *C. arietinum* + solución mineral (SM).

Tratamiento 1 (T1)= suelo + ARA + lombricomposta (LC) 6%+ *C. arietinum* + *Bacillus cereus* + *Rhizobium etli*.

Tratamiento 2 (T2)= suelo + ARA + LC 6%+ *C. arietinum*; Tratamiento 3 (T3)=suelo + ARA + LC 3% + *C. arietinum* + *B. cereus*+ *R. etli*.

Tratamiento 4 (T4)= suelo + ARA + LC 3% +; Tratamiento 5 (T5)=suelo + ARA + *C. arietinum* + *R. etli*.

* ANOVA (p 0.05), *Letras distintas con diferencia estadística significativa (Tukey).

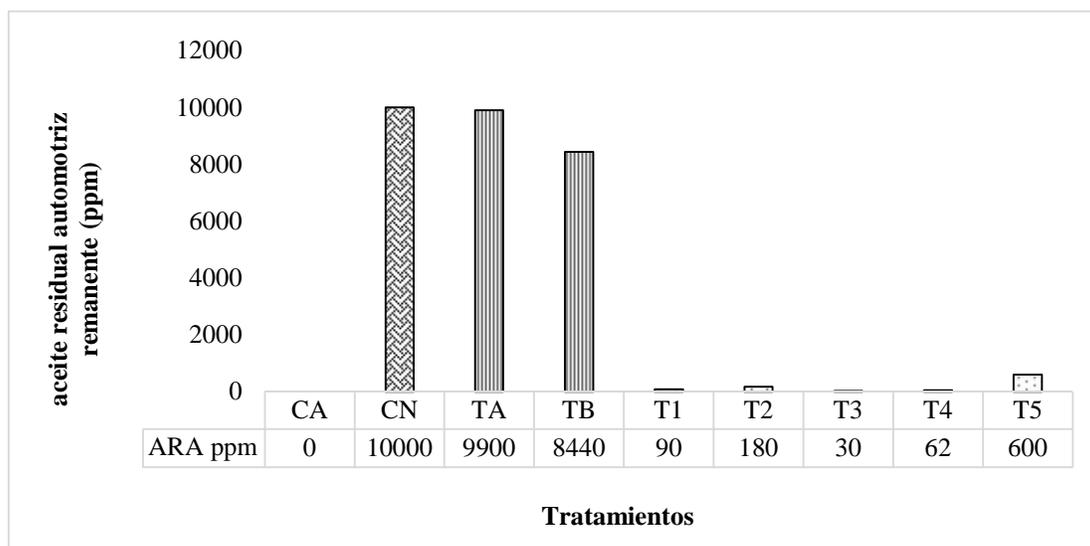
La figura 4 muestra la BS del suelo contaminado con 10000 ppm de ARA con LC al 6% o 3% y su subsecuente FR con *C. arietinum* potenciado con *B. cereus* y/o *R. etli*. En ese suelo solo bioestimulado con LC al 3% sin fitorremediar, el decremento del ARA fue mínimo, en contraste con este suelo bioestimulado con LC al 6% (TA) que lo disminuyó a 7000 ppm. En tanto que en el mismo suelo solo bioestimulado con LC al 3%, sin fitorremediar (TB) el ARA decreció a 8630 ppm. En contraste con lo

registrado en este suelo contaminado con ARA sin bioestimular (CN), donde la concentración original de 10000 ppm no cambió por efecto de la atenuación natural. Distinto a lo registrado en el mismo suelo codificado como T3, ahí la acción secuencial de la BS y la posterior FR con *C. arietinum* potenciada con *B. cereus*/*R. etli* facilitaron la reducción del ARA a una concentración muy por debajo de la máxima permitido en la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 de 4400 a 30 ppm que prácticamente, es

una cantidad que se podría detectarse en un suelo no

contaminado con mezclas de HC como el ARA.

Figura 4 En suelo concentración remanente de aceite residual automotriz bioestimulado con lombricomposta al 3 y 6% y posterior fitorremediación mediante *Cicer arietinum* y *Bacillus cereus/ Rhizobium etli*



Control Absoluto= suelo sin contaminar + solo agua.

Control Negativo= suelo + 10,000 ppm de aceite residual automotriz (ARA) no bioestimulado, sin *C. arietinum*.

Tratamiento A (TA)= suelo + ARA + lombricomposta (LC) al 6%; **Tratamiento B (TB)**=suelo + ARA bioestimulado con LC3%, sin *C. arietinum*.

Tratamiento 1 (T1)= suelo + ARA + LC 6%+ *C. arietinum* + *B. cereus* + *R. etli*.

Tratamiento 2 (T2)= suelo + ARA + LC 6% +; **Tratamiento 3 (T3)**=suelo + ARA + LC 3% + *C. arietinum* + *B. cereus* + *R. etli*.

Tratamiento 4 (T4)= suelo + ARA + LC 3% + *C. arietinum*; **Tratamiento 5 (T5)**=suelo + ARA + *C. arietinum* + *R. etli*.

En el mismo suelo codificado como T1 contaminado por ARA, bioestimulado con LC al 3% y fitorremediado mediante *C. arietinum* potenciado con *B. cereus* y *R. etli*, el ARA restante fue de 180 ppm; lo anterior señala que la integración secuencial BS/FR acortó a 3 meses el tiempo de biorestauración; en comparación con solo aplicar una de las 2 estrategias de manera independiente, que fueron insuficientes para resolver el problema de contaminación por ARA.

Discusión

El resultado mostrado en la figura 2 apoya que para resolver el problema de un suelo impactado con

ARA, la BS con la LC al 6 % lo enriqueció con sales minerales esenciales en la mineralización parcial del ARA y además suplió la demanda nutricional de *C. arietinum*, mientras que la inoculación con *R. etli* facilitó que en sus raíces hubiese una conversión de exudados en sustancias promotoras del crecimiento vegetal (SPCV); para darle tolerancia a los HC del ARA, mientras que esta especie de *Rhizobium* tiene la capacidad de degradar algunos HC aromáticos similares a los encontrados en el ARA (Lindström *et al.* 2003). Este hecho apoya la conveniencia de aplicar la FR del suelo mediante *C. arietinum* inoculado con *B. cereus* y *R. etli* para disminuir el ARA, que incluso contribuyen a contrarrestar la fitotoxicidad del ARA, en consecuencia *C. arieti-*

num mostro un crecimiento similar al registrado cuando la misma leguminosa se siembro en el suelo sin ARA (Peña-Castro *et al.* 2006).

Lo mostrado en la figura 3 indica que en el suelo el enriquecimiento mediante la LC, en concentración elevada con compuestos de N orgánico e inorgánico, al igual que con la materia orgánica de fácil degradación y otros minerales como los PO_4^{3-} (fosfatos), indujeron a la población nativa microbiana aerobia heterotrófica a mineralizar el ARA. Simultáneamente la LC suplió parcialmente la demanda nutricional de *C. arietinum*, en tanto que *B. cereus* y *R. etli* por la conversión de sus exudados de raíces en SPCV, favoreció un sano crecimiento a pesar de la fitotoxicidad del ARA, para que *C. arietinum* haya disminuido la concentración de la mezcla a un valor inferior al máximo permisible por la NOM-138. También se muestra que en el suelo con ARA donde se cultivó el *C. arietinum* sin bioestimar con LC, inoculada solo con *R. etli* (T5) se registró una reducción del PSA por la fitotoxicidad del ARA. Lo anterior sugiere que en suelo con ARA, algunas de sus propiedades físicas como la hidrofobicidad y viscosidad formaron películas que se adherieron a las raíces de *C. arietinum*, e impidieron el intercambio gaseoso con la atmosfera, lo que provocho una condición anaeróbica en la interface raíz/suelo, que a su vez causó lisis de sus membranas y en consecuencia la inhibición del crecimiento (Vidali 2001, Peña-Castro *et al.* 2006, Delgadillo-López *et al.* 2011); comparado con el PSA de *C. arietinum* (CR) cultivado en suelo sin ARA.

En la figura 4 se muestra como la LC al 6% elevo excesivamente la concentración de minerales, lo que alteró el equilibrio osmótico en la solución del suelo, e inhibió a la microbiota nativa heterotrófica aerobia oxidante del ARA (Simarro *et al.* 2013). Lo que confirma que la BS del suelo con LC al 3% fue

la adecuada para inducir a las poblaciones microbianas heterotróficas, a mineralizar la fracción ligera más ligera del ARA y la subsecuente FR mediante *C. arietinum* con ambos géneros de BPCV. Esta leguminosa se asoció con la fitodegradación de la fracción aromática del ARA, que además posee un sistema radical con capacidad de penetración para romper los agregados en el suelo formados por el ARA, de esta manera lo expuso al ambiente para que la microbiota degradadora de HC lo haya mineralizado (Vallejo *et al.* 2005, Maldonado-Chávez *et al.* 2010 Rivera-Cruz *et al.* 2012). Mientras que en el suelo el movimiento de las raíces de *C. arietinum* permitió el flujo de agua y simultáneamente el intercambio de gases, y aceleró la FR (Yateen *et al.* 1999, Delgadillo-López *et al.* 2011, Gargogoz *et al.* 2010). En esta figura también se observó un efecto positivo de la inoculación de *R. etli* en *C. arietinum* para mejorar la penetración de las raíces en la matriz del suelo y acelerar la eficaz mineralización del ARA, en combinación con la población aerobia heterotrófica oxidante de HC (Maldonado-Chávez *et al.* 2010 Vásquez *et al.* 2010). En el suelo la fitorremediación con *C. arietinum* potenciada con géneros de las BPCV favorecieron la oxidación del ARA a una mínima concentración de 600 ppm valor evidentemente inferior al máximo permisible señalado en la NOM-138, a pesar de que previamente no se bioestimuló con la LC. En el suelo este resultado también apoya que *C. arietinum* inoculado con *B. cereus* y *R. etli* tuvieron un efecto positivo en su crecimiento vegetal, debido a la síntesis de SPCV que aumentaron su capacidad de exploración y absorción mineral. Además de su conocida propiedad para mineralizar algunos de los HC para acelerar su biorestauración (Sangabriel *et al.* 2006; Delgadillo-López *et al.* 2011), en comparación con el mismo suelo (CN), donde sin la aplicación integral de la

BS/FR, el problema de contaminación ambiental por el ARA no se resolvió acorde con la NOM-138 (González-Paredes *et al.* 2013). Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, la mejor opción fue la bioestimulación de suelo contaminado con ARA con lombricomposta, seguido de la fitorremediación con *C. arietinum* potenciada con géneros de BPC; en especial cuando *C. arietinum* se inoculó *R. etli.*, para reducirla a un nivel inferior a la concentración máxima aceptada por la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 y conseguir su remediación. En comparación cuando estas estrategias se aplican independientemente, en contraste con la atenuación natural inútil para disminuir la concentración del ARA. Por lo anterior la bioestimulación seguida de la fitorremediación mejorada con BPCV son una opción viable para la restauración de suelo impactado con ARA.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés con la presente investigación.

Agradecimientos

Al proyecto 2.7 de la Coordinación de Investigación Científica de la UMSNH (2016), por el apoyo económico y beca CONACYT a la primera autora, a BIONUTRA, S, A de CV, Maravatio, Mich, México.

Literatura citada

- Benavides LJ, Quintero G, Guevara VAL, Jaimes CDC, Gutiérrez RSM, Miranda JG. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. NOVA. 2006; 4(5): 82-90.
- Delgadillo-López AE, González-Ramírez CA, Prieto-García F, Villagómez-Ibarra JR, Acevedo-Sandoval O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. Trop Subtrop Agroecosyst. 2011; 14:597-612.
- García-González MM, Farías-Rodríguez R, Peña-Cabrerales JJ, Sánchez-Yáñez JM. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp y *Azotobacter beijerinckii*. Terra Latinoam. 2005; 23(1): 65-72.
- García-Hernández D, Sosa-Aguirre CR, Sánchez-Yáñez JM. Biorremediación de agua doméstica contaminada con aceite residual automotriz. Rev Ing Hidraul Méx. 2007; 22(2): 115-8.
- Gogoz AM, Bona C, Santos GO, Botosso PC. Germination and initial growth of *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg (*Myrtaceae*) in petroleum contaminated soil and biorremediation soil. Braz J Biol. 2010; 70(4): 977-86.
- González-Paredes Y, Alarcón A, Ferrera-Cerrato R, Almaraz JJ, Martínez-Romero E, Cruz-Sánchez JS, et al. Tolerance, growth and degradation of phenanthrene and benzo[a]pyrene by *Rhizobium tropici* CIAT 899 in liquid culture medium. Appl Soil Ecol. 2013; 63: 105-11.
- Larenas PG, 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.
- Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental. Diario Oficial de la Federación. Gobierno de la República, México. 1988.
- Lindström K, Jussila MM, Hintsala HM, Kaksonen A, Mokolke L, Mäkeläinen K, et al. Potential of the *Galega-Rhizobium galegae* System for Bio

- remediation of Oil-Contaminated Soil. Food Technol Biotechnol. 2003; 41(1):11-6.
- Maldonado-Chávez E, Rivera-Cruz MC, Izquierdo-Reyes F, Palma-López DJ. Efectos de rizosfera, microorganismos y fertilización en la biorremediación y fitorremediación de suelos con petróleos crudo nuevo e intemperizado. Universidad y Ciencia. 2010; 26(2):121-36.
- Mrozik A, Piotrowska-Seget Z, Łabzek S. Bacterial Degradation and Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Pol J Environ Stud. 2003; 12:(1) 15-25.
- Peña-Castro JM, Barrera-Figueroa BE, Ruiz-Medrano R, Xoconostle-Cázares B. Bases moleculares de la fitorremediación de hidrocarburos totales del petróleo Terra Latinoam. 2006; 24 (1): 529-39.
- Rivera-Cruz MC, Maldonado-Chávez A, Trujillo-Narcia RA. Efecto del petróleo crudo en el crecimiento de *Brachiaria mautica* y en los macronutrientes en suelo y planta. Trop Subtrop Agroecosyst. 2012; 15(suppl2): S30-9.
- Sánchez-Yáñez JM. Breve tratado de microbiología agrícola teoría y práctica. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, CO-SUSTENTA, SA de CV, centro de investigación y desarrollo del estado de Michoacán, Morelia, Mich. México. 2007. p. 130-3.
- 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 Cont Ambient. 2006; 22(2): 63-73.
- SEMARNAT. Norma Oficial Mexicana. NOM-138-SEMARNAT/SS-2003. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. Manual de buenas prácticas de manejo para los aceites usados. 07 de diciembre de 2012. México. 2003.
- Simarro R, González N, Bautista LF, Molina MC. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a wood-degrading consortium at low temperatures. FEMS Microbiol Ecol. 2013; 83(2): 438-49.
- 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.
- Vásquez MC, Guerrero-Figueroa JT, Quintero A. Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. Rev Colomb Biotecnol. 2010; 12(1): 141-57.
- Vidali M. Bioremediation. An overview. Pure Appl Chem. 2001; 73(7): 1163-72.
- Walpole ER, Myers R, Myers LS. Pruebas de hipótesis de una y dos muestras. En: Probabilidad & Estadística para Ingeniería & Ciencias. (Cruz C.L.M. y Hernández C.F. Pearson Educación de México, S.A. de C.V. Ed), Naucalpan de Juárez, México. 2007. p. 321-88.
- Yateem A, Balba MT, El-Nawawy AS, Al-Awadhi N. Experiments in phytoremediation of Gulf War contaminated soil. Soil Groundwater Cleanup. 1999; 2: 31-3.