

Impacto del aceite residual automotriz en un suelo: remediación por bioestimulación

Soil polluted by waste motor oil: remediation by biostimulation

Pasaye-Anaya Lizbeth, Márquez-Benavides Liliana , Ignacio-De la Cruz Juan Luis , Sánchez-Yáñez Juan Manuel *



Datos del Artículo

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.
Laboratorio de Microbiología Ambiental.
Edif. B-3, Ciudad Universitaria.
Francisco J. Mujica S/N Felicitas del Rio.
C.P. 58000, Morelia.
Michoacán, México.
Tel: +0052 44 33 22 3500 ext. 4240

*Dirección de contacto:

Laboratorio de Microbiología Ambiental
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Edif. B-3, Ciudad Universitaria.
Francisco J. Mujica S/N Felicitas del Rio.
C.P. 58000, Morelia.
Michoacán, México.
Tel: +0052 44 33 22 3500 ext. 4240

Juna Manuel Sánchez-Yáñez
E-mail address: syanez@umich.mx

Palabras clave:

Suelo,
ARA,
bioestimulación,
población microbiana,
mineralización,
NOM-138.

J. Selva Andina Res. Soc.
2020; 11(2):84-93.

ID del artículo: 139/JSARS/2020

Historial del artículo.

Recibido abril 2020.
Devuelto mayo 2020.
Aceptado junio 2020.
Disponible en línea, agosto 2020.

Editado por:
Selva Andina
Research Society

Keywords:

Soil,
WMO,
biostimulation,
microbial population,
mineralization,
NOM-138.

Resumen

La contaminación del suelo por aceite residual automotriz (ARA) que es una mezcla de hidrocarburos (HC), que impide la actividad microbiana del reciclaje de elementos necesarios para la vida y afecta negativamente su fertilidad. La bioestimulación (BIS) es una estrategia para eliminar el ARA a un nivel que permite la recuperación de su fertilidad a un valor inferior al máximo de 4400 ppm de la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (NOM-138). El objetivo de este trabajo fue la BIS un suelo impactado por 17000 ppm de ARA por enriquecimiento independiente: con solución mineral (SM), lombricomposta (LC) y *P. vulgaris* o abono verde (AV). La recuperación del suelo se determinó mediante la liberación de CO₂ por oxidación del ARA, por la población bacteriana oxidante de ARA (BOARA) y la concentración de ARA por Soxhlet, los datos experimentales se analizaron con Tukey-error estándar. Los resultados revelaron que la BIS de suelo impactado por 17000 ppm de ARA con la SM lo decreció hasta 4386 ppm, en tanto que con la LC lo disminuyó a 3766 ppm en 6 meses, ambos valores numéricos inferiores al máximo aceptado por la NOM-13, estadísticamente diferentes con los 8596 ppm en suelo bioestimulado mediante *P. vulgaris* o AV y los 16000 ppm de ARA en el suelo sin bioestimular o control negativo. Se concluye que la BIS, es específica acorde a la complejidad de los HC como el ARA, que se eliminó con la SM y la LC según la NOM-138 para la recuperación de la fertilidad del suelo.

2020. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

Soil impacted by waste motor oil (WMO) inhibits microbial activity for recycling the basic elements of life affecting negatively its fertility. Biostimulation is a way to recover soil by eliminating WMO at a value lower than 4400 ppm permitted by an environmental rule called NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. The aim of this research was the biostimulation of soil polluted by WMO in different depending ways with the mineral solution (MS), or vermicompost (VC) with *Phaseolus vulgaris* or green manure (GM). Recovering soil was determined by the production of CO₂ from WMO's oxidation, by measuring the WMO oxidizing bacterial population (WMOOB) and WMO's concentration by Soxhlet; experimental data were analyzed with standard Tukey-error. The results showed that biostimulation of soil impacted by 17000 ppm of WMO with MS decreased it until 4386 ppm, but better biostimulation with VC which reducing WMO until 3766 ppm in 6 months, both values lower than the maximum accepted by the NOM 138, and statistically different compared to soil BIS by *P. vulgaris* or GM with 8596 ppm of WMO and the 17000 ppm of WMO from soil non-BIS or negative control. This concludes that biostimulation could be specific depending on hydrocarbon's complex as WMO was eliminated by MS and VC according to NOM-138 for recovering soil's fertility

2020. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. All rights reserved.



Introducción

El aceite residual automotriz (ARA), es el producto del uso de aceites en la lubricación y refrigeración en vehículos automotores, el ARA es una mezcla compleja de hidrocarburos (HC) alifáticos, aromáticos^{1,2}. En México el ARA según la norma ambiental conocida como Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental³, lo clasifica como residuo peligroso por lo que obliga a la disposición final: el reciclaje, reusó y/o confinamiento, en violación a esta ley algunos talleres de cambio de aceite lo vierten al suelo y al drenaje municipal, con el evidente daño ambiental, en la vida humana, animal y vegetal^{4,6}. En suelo el ARA es insoluble, forma una película impermeable que impide el intercambio gaseoso con la atmósfera⁷, e inhibe la actividad microbiana heterotrófica aerobia (AMHA) nativa que participa en los ciclos biogeoquímicos de la vida, en el reciclaje de la materia orgánica (MO), en consecuencia causa la pérdida de la fertilidad del suelo⁸. Una solución ecológica es la bioestimulación (BIS)^{9,10}, independiente al enriquecer el suelo con minerales esenciales de N (nitrógeno), P (fosforo) y K (potasio), que inducen la AMHA a eliminar el ARA a un valor inferior al máximo de 4400, dividida en: 200 ppm de la fracción ligera, 1200 ppm de la mediana, y 3000 ppm de la norma mexicana llamada NOM-138-SEMAR NAT/SSA1-2012 (NOM-138)^{11,14} que establece 4400 como el valor máximo aceptado para indicar que está contaminado por el ARA. En la literatura, la BIS de suelo impactado como el ARA se reporta por la reducción de la concentración, sin consideración de alguna regulación ambiental equivalente a la NOM-138¹⁴. Un ejemplo de lo anterior es la investigación de

Vallejo et al.¹⁵, que reportaron la BIS de un suelo contaminado por 20000 ppm de petróleo con sales inorgánicas simples (SIS), con NH_4NO_3 y K_2HPO_4 y otro fertilizante inorgánico (FIC) de sales en relación equilibrada de N:P:K (15:15:15) denominado Fergon® durante 125 días. Los resultados exhibieron que el suelo bioestimulado con SIS, lo decreció hasta 12000 ppm, comparado con el FIC que lo disminuyó hasta 13200 ppm, ambos valores numéricos superiores al límite máximo permitido por la NOM-138¹⁴, lo que apoya la necesidad de una BIS que haga posible la mayor eliminación del ARA a un valor menor al máximo de la NOM-138¹⁴ para una recuperación efectiva de la fertilidad del suelo. Con base en lo anterior el objetivo de esta investigación fue la BIS de un suelo impactado por 17000 ppm de ARA mediante 3 formas separadas, con: solución mineral (SM), lombricomposta (LC) y *Phaseolus vulgaris* o abono verde (AV).

Materiales y métodos

Esta investigación se realizó en el invernadero del laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (IIQB) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), Morelia, Mich., México. Las condiciones micro climáticas en ese invernadero fueron: temperatura 23.2 °C, luminosidad 450 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y humedad relativa 67%. El suelo que se utilizó en este experimento se colectó de la Tenencia Zapata del municipio de Morelia, Michoacán, México, ubicado detrás de una gasolinera y utilizado para la producción de maíz. El suelo se

clasificó como franco arenoso, con una capacidad de intercambio catiónico media, rico en MO ($4\pm 0.08\%$), pH ligeramente alcalino (7.2 ± 0.06)¹⁶, el suelo se solarizó a 70 °C/48 h, luego se pasó a través de una criba de 2 mm de luz, para contaminarse artificialmente con 17000 ppm de ARA disuelto en detergente comercial “La Corona” cuyo principio activo fue alquil bencen sulfonato o ABS (0.5 mL de detergente líquido por 99.5 mL de ARA), el ARA se obtuvo de un taller mecánico automotriz de la ciudad de Morelia, Mich, México. Posteriormente se pesó 2.5 kg del suelo con ARA que se colocaron en la parte superior de la jarra de Leonard, mientras que el agua o la SM se agregó en la parte inferior,

ambas partes se conectaron por una tira de algodón 15 cm de largo para el movimiento del líquido al suelo por capilaridad.

Esta investigación se realizó bajo un diseño experimental de 5 tratamientos y 4 repeticiones cada uno de acuerdo con la tabla 1, para bioestimular el suelo se sembró e incorporó al suelo *P. vulgaris* o AV, mientras la LC se obtuvo de *Eisenia foetida* L proporcionada por la Facultad de Biología de la UMS NH, Morelia Mich., cuya composición química se muestra en la tabla 2, y una SM con la siguiente composición (g/L): K₂HPO₄ 10.0, KH₂PO₄ 8.0, MgSO₄ 6.0, NH₄(NO₃)₂ 15.0, CaCO₃ 1.0, KCl 2.0, ZnSO₄ 0.5, CuSO₄ 0.5, FeSO₄ 0.2.

Tabla 1 Diseño experimental de la bioestimulación independiente de un suelo impactado por 17000 ppm de aceite residual automotriz con: solución mineral, lombricomposta y *P. vulgaris* o abono verde

Suelo	ARA	Agua	SM	LC	<i>P. vulgaris</i> /abono verde
Control relativo	+	+	-	-	-
Control absoluto	-	+	-	-	-
T ₁	+	-	+	-	-
T ₂	+	+	-	+	-
T ₃	+	+	-	-	+

(+) = se agregó; (-)= no se agregó. ARA aceite residual mineral, SM solución mineral, LC lombricomposta.

Tabla 2 Composición química de la lombricomposta de *E. foetida* en la bioestimulación de suelo impactado por 17000 ppm de aceite residual automotriz

Variable química	Lombricomposta (valor)
Nitrógeno total	1.17 %
Relación Carbono: Nitrógeno	26:28
Materia orgánica	34.96 %
Carbono orgánico	20.86 %
Mg	0.49 %
K	0.63 %
P	0.24 %
Ca	0.65 %
pH	7.2

El periodo de BIS inicio en agosto de 2015 y concluyó en enero de 2016, durante ese periodo de tiempo el suelo se mantuvo a la capacidad de campo de 80%¹⁷. Al inicio y final del experimento se cuantificó la concentración del ARA por el método de

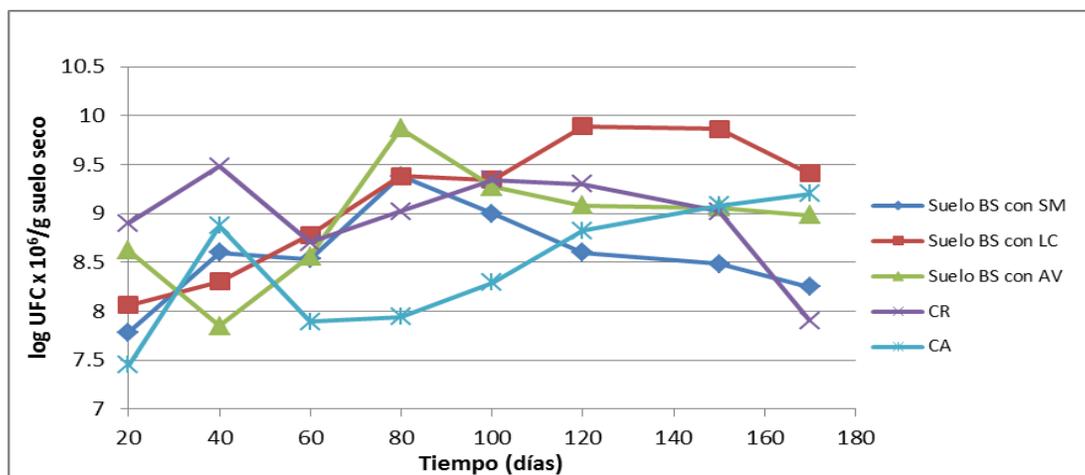
Soxhlet¹⁸. La cuantificación de la densidad bacteriana oxidante del ARA (BOARA), se realizó cada 20 días con la técnica de cuenta viable en placa¹⁹. Para ello se pesó 1.0 g de suelo suspendido en 9.0 mL de solución salina (NaCl) al 0.85% para realizar diluciones desde 10⁻¹ hasta 10⁻⁸, de esta se transfirieron 0.2 mL para sembrar en agar aceite residual automotriz (ABARA) con la siguiente composición (g/L): 10.0 mL de ARA disuelto en una solución de detergente comercial al 0.5% (La corona®), peptona de caseína 5.0, extracto de levadura 1.0, KH₂PO₄ 2.5, K₂HPO₄ 2.5, MgSO₄ 2.5, NaCl 1.0, solución de oligoelementos 1.0 mL, azul de bromotimol al 0.01% 5.0 mL, agar 18.0, ajustado a pH 7.0. Luego de sembrar las cajas se incubaron a 30 °C/48 h por triplicado/g de suelo^{20,21}. En tanto que para medir la

eliminación (mineralización) del ARA por los AMHA fue por captación de CO_2 por álcali. Para ello se pesaron 100 g de suelo colocados en matraces Bartha²², con los 17000 ppm de ARA, entonces se bioestimuló con 20 g/kg de suelo de *P. vulgaris* o AV, y el equivalente de la LC y de la SM, en el matraz Bartha en el brazo lateral se agregaron 5.0 mL de NaOH 0.1 N, con una gota de fenolftaleína al 0.1% como indicador de pH, la entrada del matraz se selló con un tapón de hule igual en los reservorios, mientras que para la boca del matraz se usó una trampa

de CaCO_3 para capturar el CO_2 atmosférico, ese CO_2 se tituló con NaOH 0.1 N cada mes, por ello se sustituyó el volumen de NaOH gastado en el reservorio de cada matraz, y se calculó la cantidad de CO_2 desprendido por el suelo con ARA, bioestimulado independientemente con la SM, la LC o el AV¹⁷. Los datos obtenidos experimentalmente se analizaron mediante Tukey-error estándar con un nivel de significancia de 0.05^{23,24}.

Resultados

Figura 1 Bioestimulación independiente un suelo impactado por 17000 ppm de aceite residual automotriz con solución mineral, lombricomposta y *P. vulgaris* o abono verde sobre la densidad bacteriana oxidante de ARA



UFC = Unidades Formadoras de Colonias, suelo BS = suelo + ARA + bioestimulación, SM = solución mineral, LC = lombricomposta, AV = abono verde, CN = control negativo (suelo + ARA), CA = control absoluto (suelo + solo agua)

En la figura 1, la densidad población de bacteria oxidante del ARA (BOARA) inducida por la BIS, con la LC 78×10^8 UFC/g de suelo seco (SS), en tanto con *P. vulgaris* o AV se registró 74×10^8 UFC/g de SS. En tanto que la BIS de SM 24×10^8 UFC/g de SS, estos valores numéricos, el suelo con ARA sin bioestimar usado como CN, se registraron 30×10^8 UFC/g de SS, comparado con el suelo sin ARA, o CA, irrigado solo con agua con 16×10^8 UFC/g de SS.

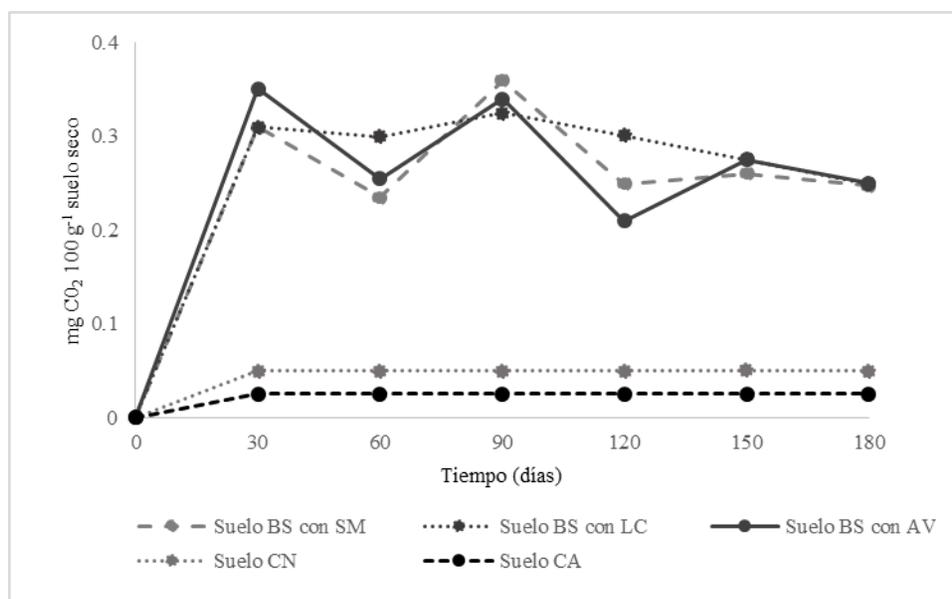
En la figura 2, la BIS independiente del suelo contaminado por 17000 ppm de ARA con una SM que registró 0.36 mg de CO_2 100/g de SS, con *P. vulgaris* o AV 0.35 mg CO_2 100/g y 0.33 mg CO_2 100/g SS, en comparación con el mínimo valor de 0.02 mg CO_2 100/g de SS sin ARA o CA, y el suelo contaminado por ARA sin bioestimar o CN, que registro 0.05 mg CO_2 100/g de SS.

En la tabla 3, después de 6 meses, se observa una disminución hasta 4386 ppm, con LC, con el máximo decremento de 3766, ambos niveles del ARA

fueron menores al límite máximo permisible por la NOM-138. Mediante *P. vulgaris* o AV, hubo una reducción hasta 8596 ppm de ARA, en comparación

con el suelo impactado por el ARA, sin bioestimular o CN, que registró la mínima disminución de 17000 a 16000 ppm de ARA.

Figura 2 Comparativo de la eliminación del aceite residual automotriz en suelo por bioestimulación independiente con una solución mineral, una lombricomposta y con *P. vulgaris* o AV medido por la producción de CO₂



Suelo BS = (suelo + ARA + bioestimulación), SM = solución mineral, LC = lombricomposta, AV = abono verde, CN = control negativo (suelo + ARA), CA = control absoluto (suelo + agua).

Tabla 3 Concentración de aceite residual automotriz en suelo antes y después de la bioestimulación independiente con una solución mineral, la lombricomposta y *P. vulgaris* o abono verde

Suelo	Aceite residual automotriz (ppm)	
	Inicial	Final
Solución mineral	17000 ^{a*}	4386 ^{c++}
Lombricomposta	17000 ^a	3766 ^{d++}
<i>P. vulgaris</i> /abono verde	17000 ^a	8596 ^b
Control negativo	17000 ^a	16000 ^a
Control absoluto	150 ^b	150 ^e

* Tukey: letras diferentes indica diferencia estadística significativa, $p = 0.05$, ++=valores inferiores al máximo aceptad por la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012.

Discusión

En la figura 1, fue evidente de que el ARA fue eliminado en parte por las BOARA cuando el suelo se bioestimuló con la SM que al enriquecerlo sales

esenciales favoreció un valor de la población de 24×10^8 UFC g/de SS. En tanto que la BIS de la LC en suelo con ARA, se registró un decremento del ARA hasta 3766 ppm, valor por debajo de lo que establece la NOM-138, lo que apoya, la LC median-

te la incorporación de compuestos orgánicos e inorgánicos mejoró la multiplicación acelerada de la microbiota heterotrófica aerobia oxidante del ARA. En tanto que la BIS con *P. vulgaris* como AV careció de los compuestos orgánicos suficientes para facilitar la suficiente eliminación del ARA^{25,26}, mientras que en el suelo contaminado por ARA sin bioestimar, irrigado solamente con agua, donde la carencia de nutrientes esenciales, combinada con la elevada concentración de ARA, evitaron que la población nativa microbiana heterotrófica aeróbica pudiese eliminar esta mezcla de HC de 17000 a 16000 ppm²⁷.

En la figura 2, se muestra que la máxima producción de CO₂ en suelo impactado por ARA se registró cuando se bioestimuló individualmente con la SM, que las sales para equilibrar la relación C:N (carbono: nitrógeno) causada por el exceso de ARA, lo que indica que la SM fue útil para la eliminación de esta mezcla de HC, para decrecer el ARA a un nivel menor al máximo aceptado por la NOM138, y con ello recuperar la fertilidad del suelo. En tanto que cuando la BIS con la LC al enriquecer el suelo con N mineral y orgánico (como la urea) al igual que la AMHA que elimina por mineralización el ARA, para disminuirlo hasta una concentración inferior al mayor valor reconocido por la NOM-138, con lo que también la productividad agrícola del suelo se restauró. Mientras que la BIS del suelo por la siembra e incorporación de *P. vulgaris* como AV que agrego al suelo compuestos orgánicos de N y C sencillos para facilitar la oxidación del ARA, aunque a un valor insuficiente para reducirlo a una concentración por debajo del máximo valor establecido por la NOM-138^{28,29}. En evidente contraste con la cantidad de ARA remanente en el suelo sin bioestimar o CN en donde la menor generación de CO₂, indica que el exceso de C del ARA y la ausencia de

N suficiente para facilitar la eliminación del ARA, causo la inhibición de la AMHA que potencialmente podría oxidar el ARA^{30,31}.

En la tabla 3, la concentración del ARA en el suelo cuando se bioestimuló con la SM, que apporto el N necesario como NH₄NO₃ hizo factible que el decremento del exceso del C de ARA^{32,33}, así como la adecuada concentración de P, con las sales de: K₂HPO₄ y el KH₂PO₄ que indujeron la eliminación del ARA hasta 4386 ppm^{34,35}, concentración que de acuerdo con la NOM-138 hizo posible que ese suelo sea nuevamente útil en la producción agrícola. La velocidad de eliminación del ARA por mineralización fue más evidente cuando el suelo se bioestimuló con la LC que adiciono microorganismos heterotróficos, urea y PO₄⁻³ solubles para decrecer el ARA hasta 3766 ppm, concentración que de acuerdo con la NOM-138 no pone en riesgo el crecimiento sano vegetal³⁶. En contraste con la concentración del ARA cuando el suelo se bioestimuló con *P. vulgaris* como AV, cuya concentración de compuestos de C y N indica que fueron insuficientes para disminuir el ARA a un valor por debajo de la máxima aceptada por la NOM-138³⁷, lo que indica que no es apto para recomendarse para uso agrícola o recreativa. Mientras cuando un suelo se contamina artificial o accidentalmente con una concentración igual o equivalente a 17000 ppm de ARA, y no se realiza ninguna acción de biorremediación, se causará la infertilidad del suelo, así como la perdida de la vida microbiana que facilita el reciclaje de la MO, propiedad fundamental de un suelo sano³⁸.

Se concluye, que es posible recuperar la fertilidad un suelo contaminado por ARA si se bioestimula adecuadamente con un complejo de compuestos orgánicos e inorgánicos de N, que induzcan a la AMHA nativa, para decrecer el ARA hasta un valor inferior al máximo permitido por la NOM-138, que,

de acuerdo con esta regulación mexicana, el suelo es de nuevo apto para actividades agrícolas y/o recreativas

Fuente de financiamiento y agradecimientos

Al proyecto 2.7 (2020) de la Coordinación General de la Investigación Científica – UMSNH. BIONUTRA, S.A. de C.V. Maravatío, Mich, México.

Conflictos de intereses

Los participantes de esta investigación aseguran que no existe conflicto de interés en relación a la planeación, ejecución y redacción de esta investigación términos científicos, técnicos o de cualquier otro tipo.

Aspectos éticos

La aprobación de la investigación por el Comité de Ética, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo - México, siguió las pautas establecidas para este comité.

Literatura citada

1. Falkova M, Vakh C, Shishov A, Zubakina E, Moskvina A, Moskvina L, et al. Automated IR determination of petroleum products in water based on sequential injection analysis. *Talanta* 2016; 148(1):661-5: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.05.043>
2. Castro Mancilla YV, Castro Meza BI, de la Garza Requena FR, Rivera Ortiz P, Heyer Rodríguez L, Ortiz Carrizales YP. Variación de las poblaciones microbianas del suelo por la adición de hidrocarburos. *Terra Latinoam* 2013;31(3):221-30.
3. Ley general del equilibrio ecológico y la protección al ambiente [en línea]. México: Cámara de Diputados H. Congreso de la Unión; 2017. [Acceso 20 de Sep 2018]. Disponible en: http://www.diputados.gob.mx/Leyes_Biblio/pdf/1_48_240117.pdf
4. Ortíz Brito O, Ize Lema I, Gavilán García A. La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México. *Gaceta ecológica* 2003; 69:83-92.
5. Vásquez MC, Guerrero Figueroa JT, del Pilar Quintero A. Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. *Rev Colomb Biotecnol* 2010;12(1):141-57.
6. Agarry S, Latinwo GK. Biodegradation of diesel oil in soil and its enhancement by application of bioventing and amendment with brewery waste effluents as biostimulation-bioaugmentation agents. *J Ecol Eng* 2015;16(2):82-91. DOI: <https://doi.org/10.12911/22998993/1861>
7. Abdulsalam S, Omale AB. Comparison of biostimulation and bioaugmentation techniques for the remediation of used motor oil contaminated soil. *Braz Arch Biol Technol* 2009;52(3):747-54. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000300027>
8. Margesin R, Hämmerle M, Tschierko D. Microbial activity and community composition during bioremediation of diesel-oil-contaminated soil: effects of hydrocarbon concentration, fertilizers, and incubation time. *Microb Ecol* 2007;53(2):259-69. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9136-7>
9. Cavazos Arroyo J, Pérez Armendáriz B, Mauricio Gutiérrez A. Afectaciones y consecuencias de los derrames de hidrocarburos en suelos agrícolas de Acatzingo, Puebla, México. *Agric Soc Desa*

- ro 2014;11(4):539-50. DOI: <https://doi.org/10.22231/asyd.v11i4.16>
10. Barrios Ziolo LF, Robayo Gómez J, Prieto Cádiz S, Cardona Gallo SA. Biorremediación de suelos contaminados con aceites usados de motor. *Revista Cintex* 2015;20(1):69-96. Disponible en: <https://search.proquest.com/openview/498b2415f555dc5e8aaa4c1b29fb547e/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2043455>
 11. Benavides López de Mesa J, Quintero G, Guevara Vizcaíno AL, Jaimes Cáceres DC, Gutiérrez Riaño SM, Miranda García J. Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *NOVA* 2006;4(5):82-92. <https://doi.org/10.22490/24629448.351>
 12. Martínez Prado A, Pérez López ME, Pinto Espinoza J, Gurrola Nevárez BA, Osorio Rodríguez AL. Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. *Rev Int Contam Ambient* 2011;27(3):241-52.
 13. Rivera Ortiz P, Rivera Lárraga JE, Andrade Lamas EC, Heyer Rodríguez L, De la Garza Requena FR, Castro Meza BI. Bioestimulación y biorremediación de recortes de perforación contaminados con hidrocarburos. *Rev Int Contam Ambient* 2018;34(2):249-62. DOI: <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.02.06>
 14. Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación. DOF Secretaria de Gobernación [en línea]. 2013. [Acceso 20 de May 2018]. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5313544&fecha=10/09/2013
 15. Vallejo V, Salgado L, Roldan F. Evaluación de la bioestimulación en la biodegradación de TPHs en suelos contaminados con petróleo. *Rev Colomb Biotechnol* 2005;7(2):67-78. DOI: <https://doi.org/10.15446/acag.v65n4.51013>
 16. Norma oficial mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. México. DOF Secretaria de Gobernación [en línea]. 2013. [Acceso 20 de May 2019]. Disponible en: http://diariooficial.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=717582&fecha=31/12/2002
 17. Sánchez-Yáñez J. Breve Tratado de Microbiología Agrícola, teoría y práctica, Ed. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Centro de Investigaciones y Desarrollo del Estado de Michoacán. Sedagro Consustenta SA de CV, Morelia, Mich: México; 2007: p. 118-9.
 18. Norma Oficial Mexicana NMX-F.089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos. foodstuff-determination of ether extract (soxhlet). DOF Secretaria de Gobernación [en línea]. 2013 [Acceso 20 de May 2018]. Disponible en: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-089-S-1978.PDF>
 19. Van Gestel K, Mergaert J, Swings J, Coosemans J, Ryckeboer J. Bioremediation of diesel oil-contaminated soil by composting with biowaste. *Environ Pollut* 2003;125(3):361-8. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00109-X](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00109-X)
 20. Agarry SE, Ogunleye OO. Box-Behnken design application to study enhanced bioremediation of soil artificially contaminated with spent engine oil using biostimulation strategy. *Int J Energy Environ Eng* 2012;3(1):31. DOI: <https://doi.org/10.1186/2251-6832-3-31>

21. Bahadure S, Kalia R, Chavan R. Comparative study of bioremediation of hydrocarbon fuels. *Int J Biotechnol Bioeng Res* 2013;4(7):677-86.
22. Leal Castillo M. Biorremediación de un suelo agrícola contaminado con aceite residual automotriz [tesis doctoral]. [Colima]: Universidad de Colima. México; 2003; p. 115. (Inédita).
23. Walpole ER, Myers RH, Myers SL. Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencias [Internet]. Naucalpan de Juárez; 2007. Recuperado a partir de: <https://librosenpdf.org/libro-pdf-probabilidad-y-estadistica/>
24. Jasmine J, Mukherji S. Evaluation of bioaugmentation and biostimulation effects on the treatment of refinery oily sludge using 2n full factorial design. *Environ Sci.: Processes Impacts* 2014;16(8):1889-96. DOI: <https://doi.org/10.1039/C4EM00116H>
25. Wang ZY, Xu Y, Wang HY, Zhao J, Gao DM, Li FM, Xing B. Biodegradation of crude oil in contaminated soils by free and immobilized microorganisms. *Pedosphere* 2012;22(5):717-25. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(12\)60057-5](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(12)60057-5)
26. Popoviciu DR, Bercu R. Effects of nutrients and hydrogen peroxide on hydrocarbon biodegradation in marine sandy sediment microcosms. *Ann Rom Soc Cell Biol* 2014;19(1):27-31.
27. Venosa AD, Zhu X. Biodegradation of crude oil contaminating marine shorelines and freshwater wetlands. *Spill Sci Technol Bull* 2003;8(2):163-78. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1353-2561\(03\)00019-7](https://doi.org/10.1016/S1353-2561(03)00019-7)
28. Johsen AR, Wich LY, Harms H. Principles of microbial PAH-degradation in oil. *Environ Pollut* 2005;133(1):71-84. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.04.015>
29. Islas García A, Peralta Rodríguez M, Vega Loyo L, López Aguilar R, Rodríguez Vázquez R. Biorremediación por bioestimulación y bioaugmentación con microorganismos nativos de un suelo agrícola contaminado con hidrocarburos. *Biotecnol Sustentabilidad* 2016;1(1):82-5.
30. Savage KE, Davidson EA. A comparison of manual and automated systems for soil CO₂ flux measurements: trade-offs between spatial and temporal resolution. *J Exp Bot* 2003;54(384):891-9. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erg121>
31. Fernández Alonso MJ, Ortiz Oñate C, Gomez Fernández L, Rubio Sánchez A. Soil CO₂ efflux as early response assessment for remediation of diesel polluted soils. *Span J Soil Sci* 2016;6(1):51-63. DOI: <https://doi.org/10.3232/SJSS.2016.V6.N1.05>
32. Abid A, Zaafour K, Aydi A, Manai I, Trabesli ABH, Messaoud C, et al. Feasibility of a bioremediation process using biostimulation with inorganic nutrient NPK for hydrocarbon contaminated soil in Tunisia. *J Bioremed Biodeg* 2014;5(4):1. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000224>
33. Kim SJ, Choi DH, Sim DS, Oh YS. Evaluation of bioremediation effectiveness on crude oil-contaminated sand. *Chemosphere* 2005;59(6):845-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.058>
34. Das N, Chandran P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnol Res Int* 2011;941810. DOI: <https://doi.org/10.4061/2011/941810>
35. Muskus Morales AM, Santoyo Muñoz C, Plata Quintero LS. Evaluación de las técnicas de atenuación natural, bioventing, bioaugmentación y bioaugmentación-bioventing, para la biodegradación de diésel en un suelo arenoso, en experimentos en columna. *Gest Ambient* 2013;16(2):83-94.
36. García Rivero M, Peralta Pérez MR. Cometabolismo en la biodegradación de hidrocarburos. *Rev Mex Ing Quím* 2008;7(1):1-12.

37. Yanque Huamaní L. Importancia de los abonos orgánicos en la agricultura. *Revista de Investigación Universitaria* 2014;3(1):60-6. DOI: <https://doi.org/10.17162/riu.v3i1.42>

38. Silvana Álvaro CE, Arocena LA, Martínez MÁ, Nudelman NES. Biodegradación aerobia de fracciones de hidrocarburos provenientes de la actividad petrolera en un suelo de la región Patagonia Norte, Argentina. *Rev Int Contam Ambient* 2017;33(2):247-57. DOI: <http://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.02.06>

Nota del Editor:

Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales.