



Phaseolus vulgaris en el tratamiento de suelo un agrícola contaminado por hidrocarburos

Phaseolus vulgaris in the treatment of agricultural soil contaminated by hydrocarbons

Marques-Benavides Liliana¹, Modesto-Sánchez Diana¹, Saucedo-Martínez Blanca Celeste¹, Rico-Cerda José Luis², Bribiesca-Rodríguez Lilian³ y Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{1*}



Datos del Artículo

¹Universidad 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 Río.
C.P. 58000, Morelia.
Michoacán, México.
Tel: +52 44 33 22 3500 Ext 4240

²Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Instituto de Investigaciones Químico Biológicas.
Catalisis Química. Facultad de Ingeniería Química.
Francisco J. Mujica S/N Felicitas del Río.
Edificio M, Gral. Francisco J. Múgica s/n.
Felicitas del Río, 58070 Morelia.
Mich., México.
Tel: +52 443 316 7176.

³Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Facultad de Químico Farmacobiología.
Tzintzuntzan 173, Matamoros, 58240 Morelia.
Mich., México.
Michoacán, México.
Tel: +52 443 314 2152.

*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 Río.
C.P. 58000, Morelia. Michoacán, México.
Tel: 0052 44 33 22 35 000 Ext 4240

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

Palabras clave:

Suelo,
hidrocarburos,
bioestimulación,
fitorremediación,
rizobacteria.

J. Selva Andina Res. Soc.
2020; 11(2):94-102.

ID del artículo: [141/JSARS/2020](https://doi.org/10.141/JSARS/2020)

Historial del artículo.

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

Editado por:
**Selva Andina
Research Society**

Resumen

En suelo la contaminación por una mezcla de hidrocarburos como el aceite residual automotriz (ARA), inhibe la mineralización de la materia orgánica y causa pérdida de su fertilidad. Una alternativa de solución es el enriquecimiento del suelo y plantas que lo eliminen a una cantidad inferior de 4400 ppm, valor máximo aceptado por la regulación en México conocida como NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003. El objetivo de este trabajo fue el tratamiento de suelo contaminado por 35000 ppm ARA con *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* para decrecer el ARA a un valor menor al máximo aceptado de la NOM-138. Las variables respuestas para determinar la recuperación del suelo en este ensayo fueron a) la concentración inicial y final de ARA por Soxhlet, y en b) *P. vulgaris*: el porcentaje (%) de germinación, en la fenología: altura de planta, longitud de raíz, y la biomasa: peso fresco y seco, aéreo y radical a plántula y prefloración. Los datos experimentales fueron analizados por Tukey 0.05%. Los resultados indican que el enriquecimiento del suelo, facilito que *P. vulgaris* con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* a prefloración, decrecieran el ARA a 1152 ppm, valor menor al máximo aceptado por la NOM-138 para la recuperación de la fertilidad de ese suelo

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

Abstract

A soil polluted by waste motor oil (WMO) is inhibiting organic matter mineralization and caused losing its fertility. An alternative solution is to enrich soil and a plant to eliminate WMO at concentration value lower than 4400 ppm, maximum value accepted by the Mexican environmental regulation called NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138). The objective of this research was to treat a soil polluted by 35,000 ppm of WMO with *Phaseolus vulgaris* inoculated with *Azotobacter vinelandii* and *Paenibacillus polymyxa* to reduce the WMO's concentration at lower value than the maximum accepted by the NOM-138. The variable responses for recovering soil 'fertility of this experiment was a) the initial and final concentration of WMO by Soxhlet, and b) for *P. vulgaris* the percentage (%) of germination, the phenology: height of plant, length of root; and biomass: areal and radical fresh/dry weight at seedlings and reflowering stages. Experimental data were analyzed by Tukey



Keywords:

Soil,
hydrocarbons,
biostimulation,
phytoremediation,
rhizobacteria.

0.05%. Results showed that soil enriched to facilitate that *P. vulgaris* with *A. vinelandii* and *P. polymyxa* at e-flowering, could reducing ARA until 1152 ppm, lower concentration than the maximum allowed by NOM-138 for recovering soil's fertility.

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

Introducción

En un suelo agrícola de México y el mundo, uno de los contaminantes derivados del petróleo es el aceite empleado en la lubricación y refrigeración de los automotores, que al perder sus propiedades debe reemplazarse, el resultado es conocido como aceite residual automotriz (ARA), compuesto por hidrocarburos alifáticos, aromáticos, bifenilos policlorados. Para la disposición final adecuada del ARA, en México existe la regulación ambiental conocida como ley general de equilibrio ecológico y protección al ambiente¹, “que obliga, a que él ARA se recicle y/o confinarse” para prevenir la contaminación de suelo por algún derrame accidental o deliberado^{2,3}. Mientras que la regulación en México que determina la máxima concentración de mezclas de hidrocarburos como el ARA, en el suelo del tipo agrícola es la NOM-138-/SSA1-2003⁴ cuyo límite máximo es de 4400 ppm. Esta concentración del ARA causa cambios negativos drásticos en las propiedades fisicoquímicas del suelo, pues bloquea el intercambio de gases, acidifica al pH, lo que inhibe la mineralización de la materia orgánica (MO), con la consecuente pérdida de fertilidad del suelo⁵⁻⁷. Por lo anterior, una alternativa de solución, es enriquecer el suelo con un abono orgánico animal del tipo de la lombricomposta (LC) que contiene sales de nitrógeno (N), fósforo (P) y un complejo fertilizante mineral de N, P con otros macros y micronutrientes^{8,9}, para la posterior siembra de una leguminosa que eliminan los hidrocarburos¹⁰ con géneros y es

pecies de bacterias que ayudan a la planta en la eliminación de esos hidrocarburos^{11,12}. Al respecto existe evidencia en la literatura de que plantas y microorganismos pueden emplearse en la recuperación de suelo agrícola impactado negativamente con mezclas de hidrocarburos¹³⁻¹⁸. Con base en lo anterior los objetivos de esta investigación fueron usar *Phaseolus vulgaris* inoculado con *Azotobacter vinelandii* y *Paenibacillus polymyxa* en suelo contaminado artificialmente por 35000 ppm de ARA para decrecerlo a un valor inferior al máximo permisible de la NOM-138.

Materiales y métodos

El experimento 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), las condiciones micro climáticas 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%.

Se usó un suelo laterítico con pH 6.64, textura arcilla 40.56 %, arena 0.76 %, limo 37.8 %, capacidad de campo 30.08 %, MO 2.57 %, capacidad de intercambio catiónico 4.61 mg/100 g. Este suelo se tamizó con malla de No. 20, se solarizó 48 h a 70 °C, que evita plagas y enfermedades. Luego se contaminó artificialmente con 35000 ppm de ARA, disuelto en 0.1% (p/v) de detergente comercial la

CORONA^(MR)¹⁷. En la primera etapa el suelo en las jarras de Leonard¹⁹ se enriqueció por 5 días con LC obtenido por donación de la Facultad de Biología de la UMSNH, Morelia, Michoacán, México; la LC de bovino tenía la siguiente composición química: nitrógeno total 1.7 %, MO 34.9%, fosforo (P) 0.24%, magnesio (Mg) 0.49%, potasio (K) 0.63%, calcio (Ca) 0.63, pH 7.2, luego de 15 días, el suelo contaminado artificialmente con ARA se enriqueció con un fertilizante mineral (FEMI) con la siguiente composición (g/L): NH₄NO₃ 10.0, K₂HPO₄ 2.5, KH₂PO₄ 2.0, MgSO₄ 1.0, NaCl 0.1, CaCl₂ 0.1, Fe-SO₄ trazas y 10.0 mL/L de una solución de oligoelementos (g/L): H₃BO₃ 2.86, ZnSO₄·7H₂O, 0.22 MgCl₂·7H₂O 1.81, pH ajustado 7.0¹⁹. Al cumplirse 30 días del enriquecimiento con la LC y el FEMI en el suelo se sembraron semillas de *P. vulgaris* proporcionadas por la Secretaria de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGDRPA) de México. El invernadero donde se realizó el experimento tiene las siguientes dimen-

siones: 8 m x 4 m 32 m². Estas semillas se inocularon con 1.0 mL de *A. vinelandii* y *P. polymyxa* ambas cepas fueron aisladas de las raíces de una *Opuntia* sp, hoy son parte de la colección del laboratorio de Microbiología Ambiental del IIQB-UMSNH. Ambos géneros y especies se prepararon en relación 1:1 (v/v) en una concentración bacteriana de 1.5x10⁸ unidades formadoras de colonias (UFC)/mL^{19,20}, durante el experimento en el suelo se controló la humedad al 80% de la capacidad de campo⁹. Las variables respuesta del experimento en *P. vulgaris* fueron: el porcentaje de germinación (%) a los 11 días, la fenología: altura de plántula (AP), longitud radical (LR), y biomasa: peso fresco y seco, aéreo y radical (PFA, PFR, PSA, PSR), cuando *P. vulgaris* alcanzó el nivel de planta y prefloración a los 19 y 33 días para determinar la concentración de ARA por Soxhlet¹³, todos los datos experimentales se analizaron estadísticamente por ANNOVA Tukey p<0.05%²¹

Resultados

Tabla 1 Porcentaje de germinación de *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa*, en el tratamiento de un suelo contaminado por 35000 ppm de aceite residual automotriz

* <i>P. vulgaris</i> en suelo	¹ Porcentaje de germinación de <i>P. vulgaris</i>
Sin ARA irrigado solo con agua (control absoluto)	97.6 ^{b**}
Sin ARA alimentado con el FEMI al 100% (control relativo)	92.8 ^c
Con 35000 ppm de ARA + LC + FEMI + <i>P. vulgaris</i> + <i>A. vinelandii</i> + <i>P. polymyxa</i> (T ₁)	100 ^a

FEMI: fertilizante mineral, LC: lombricomposta *n=6; ** Valores con letra distinta tuvieron diferencia estadística (ANOVA Tukey p<0.05),

¹11 días después de la siembra, ARA aceite residual automotriz.

En la tabla1, se muestra el porcentaje de germinación de *P. vulgaris* a los 11 días de la siembra, con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* en un suelo contaminado por el ARA. Ahí registro un 100% de germinación, valor numérico estadísticamente diferente comparado con los 92.8% y 97.6% de *P. vulgaris* en un suelo sin ARA alimentado con un fertilizante mine-

ral al 100% o control relativo (CR) y de *P. vulgaris* en el suelo sin ARA irrigado solo con agua o control absoluto (CA), mientras que *P. vulgaris* en el suelo con 35000 ppm de ARA o control negativo (CN) sin ningún tratamiento de corrección o con plantas y microorganismos las semillas no germinaron.

En la tabla 2, se presenta la fenología de *P. vulgaris* con *A. vinelandii* y *P. polymyxa*, en el tratamiento del suelo con 35000 ppm de ARA que registró 53.191 cm de AP, valor numérico estadísticamente diferente en comparación con los 67.141 cm de *P. vulgaris* en el suelo sin contaminar con el ARA y alimentado con el FEMI, ambos valores numéricos sin diferencia estadística en relación con los 63.016

cm de *P. vulgaris* en el suelo sin ARA irrigada solo con agua, en tanto que la LR de *P. vulgaris* potenciado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* en el suelo con ARA se registró 26.033 cm valor numérico sin diferencia estadística comparado con los 20.941 cm y 25.8 cm de LR que se registraron de *P. vulgaris* en el suelo usado como CR y de la fenología de *P. vulgaris* en el suelo CA respectivamente.

Tabla 2 Fenología a prefloración de *P. vulgaris* con *A. vinelandii* y *P. polymyxa*, en el tratamiento del suelo contaminado por 35000 ppm de aceite residual automotriz

<i>P. vulgaris</i> en suelo *	Fenología (cm)	
	AP	LR
Sin ARA irrigado con agua (control absoluto)	63.016 ^{ab**}	25.8 ^a
Sin ARA alimentado con un FEMI al 100% (control relativo)	67.141 ^a	20.941 ^a
Con 35000 ppm de ARA + LC + FEMI + <i>P. vulgaris</i> + <i>A. vinelandii</i> + <i>P. polymyxa</i> (T ₁)	53.191 ^b	26.033 ^a

FEMI: fertilizante mineral, LC: lombricomposta *n=6; **
Valores con letra distinta tuvieron diferencia estadística (ANOVA Tukey p<0.05).
AP altura de planta, LR longitud radical

Tabla 3 Biomasa de *P. vulgaris* a prefloración con *A. vinelandii* y *P. polymyxa*, en el tratamiento de suelo contaminado por 35000 ppm de aceite residual automotriz

<i>P. vulgaris</i> en suelo *	Biomasa (g)			
	PFA	PFR	PSA	PSR
Sin ARA irrigado solo con agua (control absoluto)	2.843 ^a	1.251 ^b	0.481 ^a	0.118 ^c
Sin ARA alimentado con un FEMI al 100% (control relativo)	2.592 ^a	1.671 ^{ab}	0.374 ^b	0.208 ^a
Con 35000 ppm de ARA + LC+ FEMI + <i>P. vulgaris</i> + <i>A. vinelandii</i> + <i>P. polymyxa</i> (T ₁)	2.957 ^a	2.189 ^a	0.355 ^b	0.194 ^a

*n = 6 FEMI: fertilizante mineral, LC: lombricomposta ** Valores con letra distinta tuvieron diferencia estadística (ANOVA Tukey p<0.05).
PFA peso fresco aéreo, PFR peso fresco radical, PSA peso seco aéreo, PSA peso seco radical.

En el tabla 3, se muestra la biomasa de *P. vulgaris* potenciado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* en el tratamiento del suelo contaminado que registró 2.957 g de PFA valor numérico sin diferencia estadística comparado con los 2.592 g de *P. vulgaris* en el suelo CR, en tanto que, el PFR de *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* en el suelo con ARA se registró 2.189 g un valor numérico sin diferencia estadística comparado con los 1.671 g de PFR de *P. vulgaris* en el suelo usado como CR, pero con diferencia estadística en comparación con los 1.251 g de PFR de *P. vulgaris* en el

suelo CR. El PSA de *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* registró 0.355 g valor numérico sin diferencia estadística comparado con los 0.374 g de *P. vulgaris* en el suelo usado como CR, ambos valores numéricos tuvieron diferencia estadística en comparación con los 0.481 g de *P. vulgaris* en el suelo CA, mientras que el PSR de *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* que registró 0.194 g, valor numérico sin diferencia estadística comparado con los 0.208 g de *P. vulgaris* en el suelo CR, ambos valores numéricos fueron esta-

dísticamente distintos comparados con los 0.118 g de *P. vulgaris* en el suelo usado como CA.

En la tabla 4, se presenta el efecto del enriquecimiento del suelo contaminado por ARA con la LC, y el FEMI para la posterior siembra de *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa*. Ahí luego de los 19 días después de la siembra de *P. vulgaris*, la concentración de 35000 ppm de ARA, se redujo hasta 15895 ppm, valor numérico estadísticamente diferente comparado con los 34986 ppm de ARA en el suelo referido como CN, mientras que en el suelo luego de 24 días de la siembra, *P. vulgaris* inoculado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* a plántula, se registró un reducción del ARA hasta

2044 ppm concentración inferior al límite máximo de la NOM-138, este valor numérico fue estadísticamente diferente comparado con los 33832 ppm de ARA en el suelo contaminado con el ARA sin tratar por enriquecimiento ni con la siembra de *P. vulgaris*. En contraste 33 días después de la siembra de *P. vulgaris* con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* se registró el máximo decremento del ARA hasta 1152 ppm, concentración menor a la máxima permisible por la NOM-138, lo que indica que el suelo se recuperó. Este valor de 1152 es un valor numérico estadísticamente diferente en comparación con los 29220 ppm de ARA en el suelo con ARA usado como CN.

Tabla 4 Concentración de aceite residual automotriz en suelo tratado con *P. vulgaris* e inoculado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* a nivel: plántula y prefloración

Tiempo (días)	Concentración de ARA (35000 ppm)	
	Suelo con ARA enriquecido y siembra de <i>P. vulgaris</i>	Suelo con ARA (control negativo)
0	35000 ^{a*}	35000 ^a
19	15895 ^a (plántula)	34986 ^b
24	2044 ^{a*}	33832 ^b
33	1152 ^{a*} (floración)	29220 ^b

* Valores con letra distinta tuvieron diferencia estadística (ANOVA Tukey $p < 0.05$), += valores inferiores al máximo de la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003

Discusión

En la tabla 1, se muestra la germinación de las semillas de *P. vulgaris* sugiere la acción benéfica de *A. vinelandii* y *P. polymyxa* que convirtieron los exudados de las semillas de *P. vulgaris* en fitohormonas que aceleraron y alcanzaron al 100% de germinación de las semillas de la leguminosa²², mientras esta reportado que esta clase de géneros y especies de bacterias benéficas para plantas tienen la capacidad para utilizar como fuente de carbono y energía algunos de los hidrocarburos del ARA, con lo que minimizaron o evitaron el efecto tóxico del ARA, que inhiben la germinación de las semillas, permiti-

tieron que no tuviesen problema para emerger a pesar de la contaminación por el ARA^{14,16,18,23}.

En la tabla 2, se presenta el crecimiento radical de *P. vulgaris* potenciado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* que decrecieron la concentración del ARA, en parte porque el sistema radical de *P. vulgaris* fue mayor cuando se potencio con *A. vinelandii* y *P. polymyxa*, lo que indica que ambas bacterias mediante conversión de los exudados de la raíz, en fitohormonas mejoraron la absorción del sistema radical de la leguminosa por las sales de N, el P y el K, del FEMI. Además de que contribuyeron a la eliminación del ARA, con lo que *P. vulgaris* tolero mas su toxicidad, pues el crecimiento de *P. vulgaris* con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* en funcion de la fenología y biomasa fue sano^{14,17,20,22,24}, incluso

mejor en algunas variables que misma la leguminosa crecida en el suelo sin contaminar por el ARA. En la tabla 3 se muestra que los valores de la biomasa de *P. vulgaris* a nivel de las raíces inoculadas con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* indirectamente hicieron evidente la fitodegradación del ARA en las raíces de la leguminosa^{5,13,14,18}, además de que ambos géneros y especies bacterianas están reportadas como capaces de hidrolizar y eliminar hidrocarburos detectados en el ARA^{10,14,20,22,24}, lo que llevo al consecuente decremento de la concentración de esta mezcla. Al respecto Udom & Nuga²⁵ reportaron que en suelo contaminado por mezclas de hidrocarburos, sembrado con *P. vulgaris* se observó que genera un sistema radical denso y abundante, que fue mejor con la actividad benéfica de *A. vinelandii* y *P. polymyxa* al mantener una eficaz absorción minerales^{19,20,25} mediante la conversión de los exudados de raíces de *P. vulgaris* en fitohormonas^{13,19,22}, de esa manera mayor tolerancia al estrés causado por el ARA¹⁴⁻¹⁶, en consecuencia *P. vulgaris* generó una biomasa radical suficiente para la eliminación del ARA, que llevo a la recuperación del suelo, útil en la producción agrícola^{17,18,20,22}, lo que se evidenció al detectarse una concentración de ARA, inferior a la mayor aceptada por la NOM-138.

En la tabla 4, se presenta el enriquecimiento del suelo con la LC y el FEMI que favorecieron la siembra de las semillas de *P. vulgaris* potenciado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa*, con lo cual a los primeros 19 días, en especial a los 24 después de la siembra a nivel de planta se observó un decremento de la concentración del ARA, en parte por la fitodegradación que se reporta, realizan las raíces de leguminosas cuando se siembran en un suelo impactado por hidrocarburos, esta acción de eliminación del ARA puede ser mejorada mediante *A. vinelandii* y *P. polymyxa* que se reportan hidrolizan algunos

aromáticos que existen en el ARA^{9,14,23,25}. Por tanto al reducir en el suelo el ARA a un valor 1152 ppm, una concentración inferior a la máxima permisible de la NOM-138, apoyan la utilidad de inocular leguminosas con *A. vinelandii* y *P. polymyxa* para acelerar la relativa eficaz eliminación del ARA en la recuperación de ese suelo, con fines agrícolas o recreativos^{12,15,18}. Mientras que el pobre decremento de la concentración del ARA en el suelo control negativo, sin enriquecer con la LC y el FEMI, seguida de la siembra de *P. vulgaris* potenciado con *A. vinelandii* y *P. polymyxa*, indican que la atenuación natural fue insuficiente^{16,26-28} para resolver un problema de contaminación de un suelo agrícola por la mezcla de los hidrocarburos del ARA. Los resultados de esta investigación apoyan que un suelo contaminado por 35000 ppm de ARA, requieren acciones de restitución de su fertilidad, mediante un tipo de LC y FEMI adecuados para facilitar la fitodegradación de *P. vulgaris* potenciada por el efecto benéfico de *A. vinelandii* y *P. polymyxa* que además contribuyen a la eliminación del ARA, hasta a un valor inferior al máximo permisible de la NOM-138, que en México sanciona la verdadera recuperación de un suelo agrícola para su reutilización en la producción agrícola.

Fuente de financiamiento

Proyecto 2.7 (2020) de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH, y BIONUTRA, S.A de CV, Maravatío, Michoacán, México.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existe ningún tipo de conflicto de interés en la planificación, realización y

redacción con las instituciones involucradas, así como las que apoyaron esta investigación.

Agradecimientos

Por el apoyo al proyecto 2.7 (2020) de la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH, Morelia, Michoacán, a BIONUTRA, S.A de CV, Maravatío, Michoacán, México.

Aspectos éticos

La aprobación de la investigación por el Comité de Ética de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en Morelia, Michoacán, México, sigue las pautas establecidas por este Comité.

Literatura citada

1. Ley general del equilibrio ecológico y la protección al ambiente [en línea]. México: Cámara de Diputados H. Congreso de la Unión; Última reforma DOF 15/05/2018; 2018. [Acceso 20 de Sep 2019]. Disponible en: <http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/ref/lgeepa.htm>.
2. Anza Cruz HG, Orantes Calleja PD, González Herrera R, Ruíz Marín A, Espinoza Medinilla E, Martínez Salinas RI, et al. Biorremediación de suelos contaminados con aceite automotriz usados mediante sistema de biopilas. *Espacio I+D Innov Desarro* 2016;5(12):49-77. DOI: <https://doi.org/10.31644/IMASD.12.2016.a04>
3. Yang C, Yang Z, Zhang G, Hollebone B, Landriault M, Wang Z, et al. Characterization and differentiation of chemical fingerprints of virgin and used lubricating oils for identification of contamination or adulteration sources. *Fuel* 2016; 163: 271-281. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.09.070>
4. Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMAR NAT/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
5. Shukry W, Al-Hawas GHS, Al-Moaikal RMS, El-Bendary MA. Effect of petroleum crude oil on mineral nutrient elements, soil properties and bacterial biomass of the rhizosphere of jojoba. *British Journal of Environment & Climate Change* 2013;3(1):103-18. DOI: <https://doi.org/10.9734/BJECC/2013/2492>
6. Ramadass K, Megharaj M, Venkateswarlu K, Naidu R. Ecological implications of motor oil pollution: earthworm survival and soil health. *Soil Biol Biochem* 2015;85:72-81. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.026>
7. Varjani SJ. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresour Technol* 2017;223:277-86. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.037>
8. Haghollahi A, Fazaelpoor MH, Schaffie M. The effect of soil type on the bioremediation of petroleum contaminated soils. *J Environ Manage* 2016;180:197-201. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.05.038>
9. Lee SH, Ji W, Kang DM, Kim MS. Effect of soil water content on heavy mineral oil biodegradation in soil. *J Soils Sediments* 2018;18:983-991. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1849-3>
10. Csutak O, Simon Gruitã A, Corbu V, Constantin N, Pojoga D, Vassu T, et al. Preliminary studies on yeast-plant systems with applications in phy-

- toremediation. Sci Bull. Series F. Biotechnol 2017; 21:183-9.
11. Escobar Alvarado L, Vaca Mier M, Rojas Valencia N, López R, Flores J. Degradation efficiency and bacterial species in soil polluted with used motor oils, treated by composting with yard trimmings and phytoremediation with *Lolium perenne*. J Agric Engineer Biotechnol 2015; 3(2): 72-8. DOI: <https://doi.org/10.18005/JAEB0302004>
 12. Mesbaiah FZ, Eddouaouda K, Badis A, Chebbi A, Hentati D, Sayadi S, et al. Preliminary characterization of biosurfactant produced by a PAH-degrading *Paenibacillus* sp. under thermophilic conditions. Environ Sci Pollut Res Int 2016;23(14):14221-30. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6526-3>
 13. Hernández Valencia I, 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.
 14. Germaine KJ, Keogh E, Ryan D, Dowling DN. Bacterial endophyte-mediated naphthalene phytoprotection and phytoremediation. FEMS Microbiol Lett 2009;296(2):226-34. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01637.x>
 15. Vasudevan V, Gayathri KV, Krishnan MEG. Bioremediation of a pentacyclic PAH, Diben(a,h) Anthracene- A long road to trip with bacteria, fungi, autotrophic eukaryotes and surprises. Chemosphere 2018;202:387-99. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.074>
 16. Abbasian F, Lockington R, Mallavarapu M, Naidu R. A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. Appl Biochem Biotechnol 2015;176(3):670-99. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1603-5>
 17. Calvo C, Manzanera M, Silva Castro GA, Uad I, Gonzalez Lopez J. Application of bioemulsifiers in soil oil bioremediation processes. Future prospects. Sci Total Environ 2009; 407(12):3634-40. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.07.008>
 18. Ron EZ, Rosenberg E. Enhanced bioremediation of oil spills in the sea. Curr Opin Biotechnol 2014;27:191-4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.02.004>
 19. García González MM, Farías Rodríguez R, Peña Cabrales JJ, Sánchez-Yáñez JM. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. Terra Latinoam 2005;23(1): 65-72.
 20. Romero García VE, García Ortiz VR, Hernández Escareño JJ, Sánchez-Yáñez JM. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a microorganismos promotores de crecimiento vegetal. Scientia Agropecuaria 2016;7(3):313-9. DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.20>
 21. Walpole ER, Myers RH, Myers SL. Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencias [Internet]. Naucalpan de Juárez; 2007. Recuperado a partir de: <http://librosenpdf.org/libro-pdf-probabilidad-y-estadistica/>
 22. Torres Gutierrez R, Pérez Navarro C, Suárez Canino N. Influencia de la inoculación de rizobacterias sobre la germinación de semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Cent Agric 2003;30(2):56-60.
 23. Koshlaf E, Shahsavari E, Haleyur N, Mark Osborn A, Ball AS. Effect of biostimulation on the distribution and composition of the microbial community of a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated landfill soil during bioremediation. Geoderma. 2019;338:216-25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.12.001>

24. Martínez AT, Speranza M, Ruiz Dueñas FJ, Ferreira P, Camarero S, Guillén F, et al. Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *Int Microbiol* 2005;8(3):195-204.
25. Udom BE, Nuga BO. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in a tropical ultisol using legume plants and organic manure. *J Agr Sci* 2015;7(4): 174-82. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v7n4p.174>
26. Schjøfning P, Thomsen IK, Petersen SO, Kristensen K, Christensen BT. Relating soil microbial activity to water content and tillage-induced differences in soil structure. *Geoderma* 2011;163(3-4):256-64. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.04.022>
27. Mykhailova L, Fischer T, Iurchenko V. Microbial activity and decomposition of soil organic matter in roadside soils contaminated with petroleum hydrocarbons. *Clean (Weinh)* 2018; 46(6): 1800132. DOI: <https://doi.org/10.1002/clen.201800132>
28. Romaniuk R, Brandt JF, Río PR, Giuffré L. Ate-
nuación natural y remediación inducida en suelos
contaminados con hidrocarburos. *Cienc Suelo*
2007;25(2):139-49.

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