



Bioestimulación de suelo impactado por aceite residual automotriz, y fitorremediación mediante *Phaseolus vulgaris* con *Micromonospora echinospora* y *Streptomyces griseus*
Biostimulation of soil impacted by waste residual oil and phytoremediation by phytoremediation by *Phaseolus vulgaris* with *Micromonospora echinospora* and *Streptomyces griseus*

Rodríguez-Higareda Alejandra¹, Saucedo-Martínez Blanca Celeste¹, Márquez-Benavides Liliana¹
Maya-Cortes Cecilia², Rico-Cerda José³, Sánchez-Yáñez Juan Manuel^{1*}

Datos del Artículo

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Laboratorio de Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Ed-B3 C.U.
Francisco J. Mujica S/N, Col. Felicitas del Río C.P. 58000, Morelia, Mich., México.
Tel: +52 443 316 7176.

²Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Facultad de Químico Farmacobiología. Tzintzuntzan 173, Matamoros, 58240 Morelia, Mich., México.
Tel +52 443 314 2152.

³Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Facultad de Ingeniería Química. Francisco J. Mujica S/N, Col. Felicitas del Río C.P. 58000, Morelia, Mich., México.
Tel: +52 443 316 7176.

***Dirección de contacto:**

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Francisco J. Mujica S/N, Col. Felicitas del Río C.P. 58000, Morelia, Mich., México. Laboratorio de Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Ed-B3 C.U.

Juan Manuel Sánchez-Yáñez

E-mail address: syanez@umich.mx

Palabras clave:

Suelo,
ARA,
solución mineral,
P. vulgaris,
M. echinospora,
S. griseus,
NOM-138.

***J. Selva Andina Res. Soc.*
2019; 10(1):37-44.**

Historial del artículo.

Recibido septiembre, 2018.
Devuelto noviembre 2018
Aceptado enero, 2019.
Disponible en línea, febrero, 2019.

**Editado por:
*Selva Andina
Research Society***

Resumen

El suelo impactado por 85000 ppm de aceite residual automotriz (ARA), mezcla de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, concentración que de acuerdo con la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138), supera el límite máximo permitido de 4400 ppm, en consecuencia, cualquier valor superior inhibe la mineralización de la materia orgánica causando pérdida de la fertilidad del suelo. Una alternativa de solución para este problema, puede ser la bioestimulación (BIS) y la fitorremediación (FITO) que reducen el ARA a un valor inferior al máximo establecido por esta noma. Los objetivos de esta investigación fueron: i) BIS de suelo contaminado por 85000 ppm de ARA, ii) FITO mediante *P. vulgaris* con *M. echinospora* y/o *S. griseus* en el decremento del ARA a valor menor máximo reconocido por la NOM-138. En la BIS, la variable-respuesta fue la concentración inicial y final de ARA, en la FITO se sembró *P. vulgaris* mediante la fenología: altura de planta, longitud radical, biomasa: peso fresco/seco aéreo y radical de la 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 suelo por 85000 de ARA la decreció hasta 29000 ppm en 150 días, en la FITO mediante *P. vulgaris* con *M. echinospora* y/o *S. griseus* la disminuyeron hasta 1492 ppm en 180 días. Se concluye que la BIS/FITO del suelo contaminado por una relativa alta concentración de ARA, fue la alternativa para solucionar este problema ambiental.

© 2019. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

Soil impacted by 85000 ppm of waste residual oil (WRO), mixture of aliphatic and aromatic hydrocarbons, and a concentration that according to NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2003 (NOM-138) exceeds the maximum limit of 4400 ppm, consequently, any higher value inhibits mineralization of organic matter and causes loss of soil fertility. An alternative solution for this problem may be biostimulation (BIS) and phytoremediation (PHYTO) that reduce the WRO to a value lower than the maximum established for this nom. The aims of this work were: a) BIS of soil impacted by 85000 ppm of WRO, b) PHYTO by *P. vulgaris* with *M. echinospora* and/or *S. griseus* in the decrease of the WRO to the lowest maximum value recognized by NOM-138. In the BIS, the variable-response was the initial and final concentration of WRO during the PHYTO *P. vulgaris* was planted through the phenology: plant height and root length; and biomass: fresh and dry aerial and radical weight to seedling. The experimental data were analyzed by ANOVA/Tukey HSDP <0.05% with

Key words:

Soil,
WRO,
mineral solution,
P. vulgaris,
M. echinospora,
S. griseus,
NOM-138.

the statistical program Statgraphics Centurion. The results indicated that the BIS of the soil by 85000 of WRO decreased it to 29000 ppm in 150 days, in the PHYTO by *P. vulgaris* with *M. echinospora* and/or *S. griseus* decreased it to 1492 ppm in 180 days. It is concluded that the BIS/PHYTO soil contaminated by a relatively high concentration of ARA, it was the alternative to solve this environmental problem.

© 2019. Journal of the Selva Andina Research Society. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

El aceite residual automotriz (ARA), una mezcla de hidrocarburos (HICO) alifáticos, aromáticos y policíclicos, productos derivados de la combustión interna de automotores y maquinaria industrial. En México se considera que el ARA causa un problema ambiental cuando contamina el suelo en concentraciones relativamente altas como 85000 ppm, que la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental (LGEEPA) lo clasifica como un residuo peligroso.¹ Mientras que la NOM-138-SEMARNAT/SS (NOM-138) referente a la contaminación por HICO similares al ARA, estableciendo en el suelo como límite máximo permisible 4400 ppm² valor total que incluye: la fracción ligera con 200 ppm, mediana de 1200 ppm y pesada con 3000 ppm. Con 85000 ppm provoca daño ambiental, primero por la insolubilidad del ARA, que inhibe el intercambio gaseoso con la atmósfera, y segundo porque evita la mineralización de la materia orgánica indispensable para la vida microbiana del suelo, lo que causa la pérdida de productividad vegetal³. En el suelo una alternativa de solución para la eliminación del ARA a valores inferiores al máximo establecido por esta norma, es la bioestimulación (BIS), una estrategia que maneja diversas acciones químico biológicas y que se inicia con la aplicación de un detergente (DEGE) que solubiliza los HICO del ARA, seguida de una solución mineral (SOMI) que restablece el balance de la relación C (carbono): N (nitrógeno) del suelo, por el exceso del ARA, mientras que otras acciones complementarias son: la necesaria adición

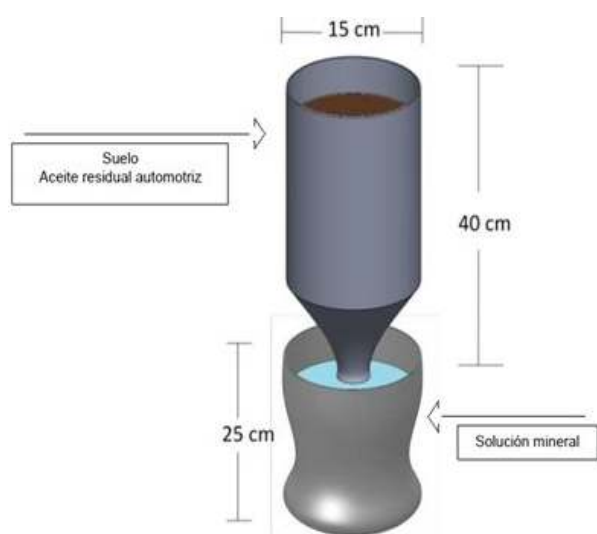
de H₂O₂, una fuente disponible de O₂ (oxígeno), que asegura la oxidación del ARA, así como el empleo de un extracto fúngico crudo que contiene la lacasa (EXFUC), que hidroliza parcialmente la fracción aromática del ARA⁴ y facilita que posteriormente se oxide. En suelo impactado por el ARA, la BIS, además requiere de ajustar la humedad al 80 % de la capacidad de campo, e inducir a la microbiota autóctona heterótrofa aerobia a la oxidación eficaz del ARA y concluir la por fitorremediación (FITO) con una leguminosa tolerante a los HICO del ARA como: *P. vulgaris* potenciada mediante *M. echinospora* y/o *S. griseus*, géneros de actinomicetos oxidantes de algunos de los compuestos aromáticos existentes en el ARA^{5,6} para decrecerlos a un valor inferior al máximo señalado por la NOM-138. Con base a lo anterior, los objetivos de este trabajo fueron: i) BIS de suelo contaminado por 85000 ppm de ARA, ii) FITO mediante *P. vulgaris* potenciado con *M. echinospora* y/o *S. griseus* para disminuir el ARA a un valor inferior al mayor permitido por 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 μmol·m⁻²·s⁻¹ y humedad relativa del 67%. Se usó suelo agrícola perteneciente a un sitio ubicado a los 19° 39' 27" de latitud norte 100° 19' 59" de longi-

tud oeste, con una altitud de 1820 msnm de clima templado en un terreno agrícola denominado “La cajita” sobre el km 5 de la carretera Morelia-Pátzcuaro de la Tenencia Zapata del municipio de Morelia, Mich, México. El suelo se solarizó por 24 h para reducir y/o eliminar plagas y enfermedades, se tamizó con una malla del No. 20 y contaminó con 85000 ppm de ARA proveniente de un taller mecánico automotriz de la ciudad de Morelia, de acuerdo con lo señalado en la literatura⁵, para ello el ARA se emulsificó en agua con el detergente la “Corona®” al 0.5 % (p/v), finalmente 1 Kg de este suelo se colocó en la parte superior de la Jarra de Leonard Figura 1. Mientras que el recipiente soporte se llenó con SOMI y/o agua en función del diseño experimental planteado⁷.

Figura 1 Diagrama de la Jarra de Leonard⁷



El ensayo se inició con: i) BIS secuencial del suelo impactado por ARA, con el DEGE la “Corona®” al 0.5 % (p/v), se complementó con SOMI con composición química (g/L): NH_4NO_3 10, K_2HPO_4 2.5, KH_2PO_4 2.0, MgSO_4 1.0, NaCl 0.1, CaCl_2 0.1, FeSO_4 trazas y 10.0 ml/L de solución de microelemen-

tos (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, se adicionó H_2O_2 al 0.5%. Para la generación del EXFUC se usaron 12.5 mL *P. chrysogenum* que se sembraron en matraz de 500 mL, con 250 mL de caldo lignina residual de paja de trigo (LIREPATO) cuyo 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 0.05.0, 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 °C/20min⁴. El matraz con *P. chrysogenum* se incubó a 30 °C/12 días, luego el medio de cultivo se filtró y centrifugó para eliminar el hongo, posteriormente se usaron 100 mL de EXFUC/Kg de suelo impactado por el ARA, cada semana hasta iniciar la FITO.⁸ En tanto que en el suelo la humedad se controló al 80 % de la capacidad de campo, que permitió la BIS secuencial, complementaria y acumulativa que redujo el ARA. Para la siguiente fase, la FITO mediante *P. vulgaris* con *M. echinospora* y/o *S. griseus* (aislados de nódulos de *Medicago* spp. en el Laboratorio de Microbiología Ambiental del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (IIQB) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) se cultivaron 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 °C/72 h. Para inocular *P. vulgaris* con los actinomicetos se realizó la siguiente operación: por cada 20 semillas de *P. vulgaris* (obtenidos del Laboratorio de Microbiología ambiental del IIQB-UMSNH) se inocularon con 1.0 mL de cada género de actinomiceto crecido en agar AA, a una concentración celular por cuenta viable (CVP) en placa, por dilución de cada uno en detergente al 10% que se diluyó en 99.0 mL de NaCl 0.85%, para asegurar la homo-

genización y ajustarse a una densidad celular de 1.5×10^8 UFC/g, de *M. echinospora* y *S. griseus* mezclados en una relación 1:1 (v/v)⁵ y realizar el diseño experimental (Tabla 1) de bloques al azar con 3 controles: suelo sin ARA irrigado solo con agua o control absoluto (CA), el suelo con ARA sin bioestimular, ni fitorremediar o control negativo (CN), el suelo sin ARA alimentado con la SOMI o control

relativo (CR), y los 4 tratamientos para la fase de FITO a) suelo con ARA bioestimulado y fitorremediado con *P. vulgaris* sin inocular con *M. echinospora* y/o *S. griseus*, b) *P. vulgaris* con *M. echinospora* sembrado en suelo con ARA c) *P. vulgaris* con *S. griseus* en suelo con ARA d) *P. vulgaris* inoculado con *M. echinospora* y *S. griseus* en suelo con ARA.

Tabla 1 Diseño experimental de la bioestimulación de un suelo impactado por 85000 ppm de aceite residual automotriz con un detergente, solución mineral, H₂O₂, extracto fúngico crudo y fitorremediación mediante *P. vulgaris* con *M. echinospora* y *S. griseus*

Suelo*	Aceite residual automotriz 85000 ppm	Bioestimulación t = 150 días			Fitorremediación t = 180 días	
		Solución mineral (SOMI)	Detergente + SOMI	H ₂ O ₂	Extracto fúngico crudo	<i>P. vulgaris</i>
Control absoluto sin ARA, solo agua (CA)	-	-	-	-	-	-
Control relativo sin ARA y solución mineral (CR)	-	100%	+	+	+	+
Control negativo + ARA, sin BIS ni FITO o (CN)	+	-	-	-	-	-
<i>P. 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%	+	+	+	-

*n = 6, (+) = agregado, (-) = no agregado.

Los valores numéricos de los experimentos se analizaron mediante ANOVA/Tukey HSD P<0.05% con el programa estadístico Statgraphics Centurión.

Resultados

En Tabla 2 se expresa la BIS de suelo impactado por ARA, con DEGE, una SOMI, el H₂O₂ y el EX-FUC, con el 80% de la capacidad de campo por 150 días. En ese suelo la concentración inicial de ARA fue de 85000 ppm, decreciendo a 29000 ppm, ambos valores numéricos fueron estadísticamente diferentes, comparados con los valores análogos en el suelo impactado por ARA sin BIS o CN, ahí la ate

nuación natural redujo el ARA de 85000 ppm a 59500 ppm.

En Tabla 3 se reporta la fenología y biomasa de *P. vulgaris* potenciado mediante *M. echinospora* y *S. griseus* a nivel de plántula, durante la FITO de suelo impactado por 29000 ppm de ARA, ahí *P. vulgaris* con una altura de planta (AP) de 15.32 cm, una longitud radical (LR) de 14.25 cm, estos valores numéricos sin diferencia estadística comparados con los 15.67cm de AP y 15.25 cm de LR de *P. vulgaris* alimentado con solución mineral, sin potenciala con *M. echinospora* y *S. griseus* en suelo sin ARA o CR. Pero con diferencia estadística comparados con los valores de 13.15 cm de AP y 7.60 cm de LR de

P. vulgaris sin potenciar con *M. echinospora* y *S. griseus* en suelo impactado por el ARA.

Tabla 2 En suelo concentración de aceite residual automotriz bioestimulado mediante un detergente, una solución mineral, el H₂O₂ y un extracto fúngico crudo que contiene la lacasa por 90 días

Suelo* + 85000 ppm de aceite residual automotriz	En suelo concentración de aceite residual automotriz después de 150 días de bioestimulación (ppm)
Sin bioestimular (control negativo)	59500 ^{b**}
Suelo bioestimulado con detergente 0.5% + solución mineral + H ₂ O ₂ 0.5% + extracto fúngico crudo	29000 ^a

*n=6 **Letras distintas son estadísticamente diferentes (ANOVA/Tukey HSDP<0.05%).

Tabla 3 Fenología y biomasa de *P. vulgaris* con *M. echinospora* y *S. griseus* durante la fitorremediación de suelo contaminado por 29000 ppm de aceite residual automotriz

Suelo con <i>P. vulgaris</i> *	AP (cm)	LR (cm)	Peso fresco (g)		Peso seco (g)	
			aéreo	Radical	Aéreo	Radical
Sin ARA (control absoluto)	10.60 ^{e*}	9.23 ^c	0.75 ^c	0.31 ^c	0.09 ^c	0.03 ^f
Sin ARA alimentado + solución mineral (CR)	15.67 ^a	15.25 ^a	1.96 ^a	0.89 ^b	0.23 ^a	0.06 ^c
**29000 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 ^c
29000 ppm de ARA + solución mineral + H ₂ O ₂ + <i>M. echinospora</i>	9.26 ^e	7.95 ^c	0.89 ^d	0.75 ^c	0.13 ^b	0.07 ^b
29000 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
29000 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

AP Altura de planta, LG longitud radical

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

Tabla 4 En suelo concentración de aceite residual automotriz durante la bioestimulación y posterior fitorremediación mediante *P. vulgaris* potenciado con *M. echinospora* y *S. griseus*

Suelo*	ARA remanente en suelo (ppm)
Suelo con ARA sin bioestimular (control negativo)	59500 ^{b**}
Suelo con ARA bioestimulado con detergente + solución mineral + H ₂ O ₂ + extracto fúngico crudo	29600 ^c
Suelo con ARA bioestimulado y fitorremediado solo <i>P. vulgaris</i>	19500 ^d
Suelo con ARA fitorremediado con <i>P. vulgaris</i> en plántula potenciado con:	
<i>M. echinospora</i>	7300 ^c
<i>S. griseus</i>	6890 ^b
<i>M. echinospora</i> + <i>S. griseus</i> .	1450 ^{a*}

*n= 6, **Letras distintas son estadísticamente diferentes (ANOVA/Tukey HSDP<0.05%).

+ = valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 de 4400 ppm.

En tanto que *P. vulgaris* en suelo sin ARA o CR, registró un peso fresco aéreo (PFA) de 1.96, valor numérico sin diferencia estadística con los 1.86 g de PFA en *P. vulgaris* con la mezcla de *M. echinospora*/*S. griseus* en suelo impactado por el ARA, ambos valores numéricos de PFA fueron estadísticamente diferentes a los 1.30 g de PFA en *P. vulgaris* sin *M. echinospora*/*S. griseus*, en suelo impactado por

ARA. Respecto al peso fresco radical (PFR) se registraron 1.18g en *P. vulgaris* con *M. echinospora* y *S. griseus*, cuyo e valor numérico fue estadísticamente diferente a los 0.89 g de PFR en *P. vulgaris* sin potenciar con estos actinomicetos, alimentado con una solución mineral sembrado en suelo sin impactar por el ARA o CR, respecto al peso seco aéreo (PSA) fue 0.19 g 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 0.23 g 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 0.10 g 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 0.06 g de PSR de *P. vulgaris* sin potenciar con *M. echinospora* y *S. griseus* sembrado en suelo no impactado por el ARA o CR.

En Tabla 4 los datos de suelo la concentración de ARA después de la FITO por *P. vulgaris* potenciado mediante *M. echinospora* y *S. griseus*, se detectó la mayor eliminación del ARA, de 29600 ppm hasta 1450 ppm, valor inferior al 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 HICO únicamente se redujo desde 85000 ppm hasta 59500 ppm derivado de la acción de la atenuación natural.

Discusión

En Tabla 2 se reporta la BIS del suelo mediante un DEGE que eficazmente disolvió la mayor parte de los alifáticos del ARA^{9,3} seguida de la BIS con la SOMI que aportó las sales esenciales de NH_4^+ y NO_3^- para ajustar el desequilibrio C:N causado por el exceso de ARA, mientras que los PO_4^{+3} (fosfatos) solubles aceleraron la eliminación del ARA, apoyado por la BIS mediante el H_2O_2 que suplió el O_2 indispensable para la continua oxidación de esos HICO⁶, en tanto que la BIS mediante el EXFUC que

contenía la lacasa se ha reportado puede ser útil en hidrolisis algunos de los aromáticos del ARA^{4,5} y que posteriormente se mineralizaron en productos inocuos: CO_2 y H_2O . Para lograr las acciones integrales de la BIS, fue indispensable el ajuste de la humedad del suelo al 80% de la capacidad de campo, que facilitó la circulación del agua y gases a través de los poros del suelo, con la consecuente mineralización del ARA, cuyo proceso es estrictamente aeróbico. Lo que explica porque en un tiempo relativamente corto de 150 días la concentración, se redujo de 85000 ppm a 29000 ppm como resultado de la BIS secuencial, complementaria y acumulativa por las acciones de BIS que se señalaron previamente.^{3,10}

En la Tabla 3 se presenta la FITO del suelo contaminado por 29000 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 HICO del ARA.^{5,11} Además de que la literatura reporta que tanto *M. echinospora* como *S. griseus* tienen capacidad genética para hidrolizar ciertos aromáticos^{3,5} del ARA, para potenciar a *P. vulgaris* a la continua disminución de la concentración del ARA, a un valor inferior al máximo aceptado por la NOM-138¹² en contraste *P. vulgaris* sin potenciar con estos géneros de actinomicetos, o solo con un género como en el caso de *M. echinospora*, en comparación de la acción en combinación con *S. griseus*, que se explican porque el metabolismo de cada uno de los géneros de actinomicetos son diferentes en la oxidación de HICO, en consecuencia se complementan para consumir una mayor diversidad y can-

tividad de los HICO del ARA, en contraste cuando no se utilizan actinomicetos para mejorar la FITO, el ARA puede ser fitotóxico para *P. vulgaris*, pues la raíz es incapaz de oxidar el ARA para decrecer el ARA a una concentración inferior al máximo valor aceptado por la NOM-138, pues en ausencia de los actinomicetos u otros géneros y especies de microorganismos que oxidan HICO, la hidrofobicidad del ARA puede impedir la absorción de agua, así como el intercambio de gases en el sistema radical, lo que puede causar una inhibición del crecimiento de las raíces de *P. vulgaris*.¹³

En Tabla 4 la BIS de suelo impactado por 85000 ppm de ARA, mediante un DEGE que disuelve la mayor parte de la mezcla de HICO, con una SOMI que promovió su oxidación, apoyado por el H₂O₂ como un fuente mediata de O₂ y el EXFUC que contenía la lacasa una enzima extracelular fúngica altamente estable a las condiciones cambiantes físicas químicas y biológicas para hidrolizar y disminuir parte la fracción aromática del ARA, mientras haya un control de la humedad del suelo, para que la condición ambiental, sea la suficiente para que la microbiota autóctona heterotrófica aerobia haya decrecido el ARA hasta 29000 ppm, lo que facilitó la FITO mediante *P. vulgaris* potenciado con *M. echinospora* y *S. griseus* ya que ambos géneros y especies de actinomicetos tienen la capacidad de oxidar HICO y acelerar la mineralización del ARA^{3,5,10}, hasta una concentración de 1492 ppm puesto que al hacer el análisis de lo que redujo en la mezcla de HICO 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.^{10,13}

Con base a lo anterior se concluye la BIS secuencial, complementaria y con efecto acumulativo son necesarias para la solución de un problema de con-

taminación complejo, que no solo es dependiente de la concentración del ARA, sino también de aquellas propiedades fisicoquímicas del ese ambiente, que son determinantes para la eliminación eficaz y rápida de los HICO, del ARA se realice en un tiempo que permita la reutilización de ese suelo con fines de producción agrícola y/o recreativos, sin riesgo de causar algún daño en los seres vivos.

Conflictos de intereses

Los participantes en esta investigación aseguramos que no existe ningún problema de intereses relacionados con la planeación, ejecución y reporte de esta investigación que comprometa el valor de los resultados obtenidos o sus consecuencias en términos científicos, técnicos, o de cualquier otro tipo.

Agradecimientos

A la CIC Proyecto 2.7 (2019) de la UMSNH y BIONUTRA, S.A de CV, Maravatío, Mich, México, por el apoyo económico.

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. 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 May 2018]. Disponible en: <http://>

- www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/148_240117.pdf
2. Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNA T/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
 3. Burghal AA, Al Mudaffarand NA, Mahdi KH. Ex situ bioremediation of soil contaminated with crude oil by use of actinomycetes consortia for process bioaugmentation. Eur J Exp Biol 2015; 5(5):24-30.
 4. Baltierra Trejo E, Silva Espino E, Márquez Benavides L, Sánchez Yáñez JM. Inducción de la degradación de lignina de paja de trigo en aromáticos por *Aspergillus* spp. y *Penicillium chrysogenum*. J Selva Andina Res Soc 2016;7(1):10-9.
 5. Hirsch AM, Valdés M. *Micromonospora*: An important microbe for biomedicine and potentially for biocontrol and biofuels. Soil Biol Biochem 2010;42(4):536-42. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.023>
 6. García Hernández D, Sosa Aguirre CR, Sánchez Yáñez JM. Biorremediación de agua doméstica contaminada con aceite residual automotriz por bioestimulación. Ingeniería Hidráulica en México 2007; 22(2): 113-8.
 7. Solans M, Vobis G. Actinomycetes saprofitos asociados a la rizósfera y rizoplano de *Discaria trinervis*. Ecol Austral 2003;13(1): 97-107.
 8. Riojas González HH, Torres Bustillos LG, Mondaca Fernández I, Balderas Cortés JJ, Gortarés Moroyoqui P. Efectos de los surfactantes en la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Quím Viva 2010; 9(3):120-45.
 9. García González MM, Fariás Rodríguez R, Peña Cabriales JJ, Sánchez Yáñez JM. Inoculación del trigo var. Pavón con *Azospirillum* spp. y *Azotobacter beijerinckii*. Terra Latinoam 2005; 23(1): 65-72.
 10. Saucedo Martínez BC, Montañó Arias NM, Márquez Benavides L, Sánchez Yáñez JM. Bioestimulación de suelo impactado con 45000 ppm de aceite residual automotriz y Fitorremediación con *Zea mays* y *Burkholderia cepacia* y/o *Rhizobium etli*. J Selva Andina Res Soc 2016;7(2):86-94.
 11. Aoudia M, Mahfoodh ASM. Solubilization of naphthalene and pyrene by sodium dodecyl sulfate (SDS) and polyoxyethylenesorbitan monooleate (Tween 80) mixed micelles. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp 2006; 287(1-3):44-50. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.03.036>
 12. Pinto Mariano A, de Arruda Geraldés Kataoka AP, de Franceschi de Angelis D, Marcos Bonoto D. Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil from a petrol station. Braz J Microbiol 2007; 38(2):346-53. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822007000200030>
 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):149-55.
 14. Pérez Armendáriz B, Castañeda Antonio D, Castellanos G, Jiménez Salgado T, Tapia Hernández A, Martínez Carrera D. Anthracene effect on stimulation of growth of maize and kidney bean. Terra Latinoam 2011;29(1): 95-102.