

CARACTERIZACIÓN DEL SUELO Y PLANTAS DE UN SITIO CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS

Characterization of Soils and Plants in a Site Polluted with Petroleum

Elizabeth Hernández-Acosta^{1†}, María del Carmen Gutiérrez-Castorena², Juan Enrique Rubiños-Panta² y Jorge Alvarado-López²

RESUMEN

Uno de los primeros trabajos que deben realizarse en suelos contaminados que se pretendan biorremediar es su análisis químico, físico y biológico; con los resultados puede definirse la estrategia a seguir para remediar el sitio contaminado. Con el objetivo de caracterizar a un suelo contaminado con petróleo y a las plantas que crecen en él, se escogió un sitio en Minatitlán, Veracruz. Se seleccionaron al azar nueve puntos de muestreo, se tomó un suelo modal, se realizó un perfil y se describió su morfología. Los resultados muestran que las plantas que crecen en este suelo contaminado con hidrocarburos son *Chamaecrista nictitans*, *Panicum* sp., *Cynodon* sp. y *Andropogon* sp. Las propiedades químicas y físicas del suelo fueron: fracción predominante, arena; contenido de materia orgánica, de pobre a media; bajo contenido de sales; capacidad de intercambio catiónico y por ciento de saturación de bases, bajos. Estas características permiten que estos suelos contaminados sean factibles de remediar biológicamente. Las concentraciones de hidrocarburos totales del petróleo en el suelo variaron de 400 a 367 000 mg kg⁻¹; los análisis microbiológicos mostraron que las poblaciones más altas de hongos hidrocarbonoclastas (HC's) se localizaron en la rizosfera de *Panicum* sp., mientras que las poblaciones más altas de bacterias fijadoras de N atmosférico (BFNA) y BFNA HC's, en la rizosfera de *Chamaecrista nictitans*.

Palabras clave: suelos contaminados, biorremediación, *Chamaecrista nictitans*, *Panicum* sp., *Cynodon* sp., *Andropogon* sp.

¹Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. 56230 Chapingo, estado de México.

[†] Autor responsable (elizahac@yahoo.com.mx)

²Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo. 56230 Montecillo, estado de México.

Recibido: agosto de 2004. Aceptado: mayo de 2006.
Publicado en *Terra Latinoamericana* 24: 463-470.

SUMMARY

Chemical, physical, and biological characterization is one of the first tasks when defining the bioremediation strategy to be used in contaminated soils. In order to characterize a contaminated soil and plants growing in the area, a site in Minatitlán, Veracruz, was selected. Nine sampling points were selected randomly and characterized chemically, physically, and morphologically. *Chamaecrista nictitans*, *Panicum* sp., *Cynodon* sp., and *Andropogon* sp. were the main plants identified in the area. Soil characterization showed that a) the predominant fraction was sand, b) organic matter content ranged from poor to medium, and c) salt content, exchange capacity and percentage of base saturation were low. These characteristics make biological remediation feasible. The concentration of total hydrocarbons ranged from 400 to 367 000 mg kg⁻¹. Microbiological analyses showed that the highest populations of hydrocarbonoclast fungi were located in the rhizosphere of *Panicum* sp., while the highest populations of nitrogen-fixing bacteria and nitrogen-fixing hydrocarbonoclast bacteria were present in the rhizosphere of *Chamaecrista nictitans*.

Index words: contaminated soils, bioremediation, *Chamaecrista nictitans*, *Panicum* sp., *Cynodon* sp., *Andropogon* sp.

INTRODUCCIÓN

Para biorremediar un suelo, primero se tiene que hacer la caracterización del mismo, pues la estrategia para su limpieza es específica en cada suelo. Esto no debe considerarse sólo como un requisito administrativo, sino como una verdadera necesidad técnica, en la que no deben escatimarse recursos y en la que debèn involucrarse expertos en el área. El éxito de la biorremediación dependerá de los resultados de los análisis de los sitios (Banks *et al.*, 2000).

Existe mucha información internacional sobre los datos que deben considerarse para estudiar un sitio que se pretenda remediar por cualquiera de las alternativas que ofrecen los procesos físicos, químicos y biológicos (Fiorenza *et al.*, 2000). En México, se han iniciado algunos trabajos de caracterización de sitios afectados por hidrocarburos, específicamente en Tabasco (Gutiérrez y Zavala, 2002), donde el suelo es el factor que más se estudia; sin embargo, esta información primaria no puede generalizarse en todo el país y mucho menos en las zonas tropicales y subtropicales, en las cuales se presentan diversos tipos de procesos de formación del suelo.

Las propiedades del suelo más importantes para definir la estrategia de biorremediación son: textura, materia orgánica, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico y estado nutrimental del suelo (Braddock *et al.*, 1997). Godbout *et al.* (1995) mencionaron que tales características pueden afectar la biodegradación de compuestos xenobióticos por la influencia que tienen sobre el sustrato, la disponibilidad de nutrientes y la solución del suelo.

En cuanto a la caracterización microbiológica se ha considerado poco, a pesar de que es determinante para definir la aplicabilidad de la biorremediación. Ésta consta de dos estudios: la cuantificación de los microorganismos presentes, la cual incluye las pruebas de biofactibilidad, y los estudios de biodegradabilidad en laboratorio; información indispensable para predecir el tiempo que tomará la biodegradación en campo (Finn, 2000).

En el presente estudio: 1) se realizó una caracterización de suelos y plantas en un sitio contaminado por hidrocarburos, en Minatitlán, Veracruz; 2) se hizo un estudio microbiológico para determinar si es posible aplicar en ellos la tecnología de fitorremediación; y 3) se determinó la relación entre los microorganismos, las propiedades del suelo y el tipo de plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se encuentra en el municipio de Minatitlán, Veracruz, cuyas coordenadas geográficas son: al norte, 18° 04' N y, al sur, 17° 06' N; al este, 93° 45' O, y, al oeste, 94° 39' O. El municipio de Minatitlán representa 4.26% de la superficie del estado de Veracruz (INEGI, 1995).

Para seleccionar los sitios de muestreo y determinar el tipo de suelo presente en la zona, primero se realizó un recorrido de campo. En general, los suelos contaminados se ubicaron en depósitos aluviales. Se hizo un perfil modal del suelo, se describió su morfología, de acuerdo con Cuanalo (1975), y se colectaron muestras del mismo, por capas u horizontes, para su caracterización física y química. Además, en un mapa de zona se trazó una retícula y, en los puntos elegidos al azar, se seleccionaron los sitios de muestreo. En total, se eligieron nueve sitios en el área contaminada con hidrocarburos para identificar a las plantas que ahí se desarrollan, el tipo de microorganismos y las propiedades del suelo rizosférico. Para ello, se colectaron las plantas, se anotaron los datos referentes a su ubicación y se tomaron muestras de raíz y suelo rizosférico de cada sitio de muestreo (de 0 a 20 cm de profundidad). En laboratorio, las plantas colectadas se secaron en una estufa durante 72 h, a 72 °C, y se identificaron, a nivel de género.

Los análisis realizados a las muestras de suelo correspondieron a los horizontes o las capas identificadas a diferentes profundidades del perfil. Se analizó la textura, el pH, la materia orgánica, el carbonato de calcio, la capacidad de intercambio catiónico, el por ciento de saturación de bases y la conductividad eléctrica. Todas las metodologías utilizadas se reportan en el manual de Van Reeuwijk (1995). Se realizaron tres repeticiones por muestra de suelo.

Se determinó la concentración de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) no degradados, siguiendo el Método de extracción 3540A (modificado), extracción soxhlet (EPA, 1986) y el Método EPA 418.1 espectrofotometría en infrarrojo modificado (EPA, 2003). Las muestras se leyeron en el equipo infrarrojo Nicolet Nexus 470 FT-IR y se utilizó el programa de cómputo EZ OMNIC E.S.P., Versión 5.1 (Thermo Electron Corporation, 2000). Las determinaciones físicas y químicas fueron: pH, contenido de materia orgánica, contenidos de nitrógeno, fósforo y potasio intercambiable, y textura (Van Reeuwijk, 1995).

La evaluación de las poblaciones microbianas se realizó con las metodologías propuestas por Clark (1965) y Parkinson (1982). Se pesaron 10 g de raíz, después se vaciaron en botellas que tenían 90 mL de agua estéril y se agitaron vigorosamente, a una velocidad de 150 revoluciones por minuto (rpm), en una incubadora-agitadora durante 10 min. Después, con

una pipeta estéril, se transfirió 1 mL de esta dilución a un tubo de ensayo que contenía 9 mL de agua estéril. A partir de la dilución de este tubo, se continuó haciendo diluciones decimales, 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} , para poblaciones de hongos hidrocarbonoclastas (HC's), y 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7} , para poblaciones de BFNA y BFNA HC's. Por triplicado, se colocaron las cajas de Petri con su respectivo medio de cultivo, se agregó al centro de cada una de las cajas 0.1 mL de las diluciones y se dispersó por toda la superficie del medio de cultivo. Después, las cajas se incubaron a 28 °C, hasta que se desarrollaron las colonias (seis días, para BFNA y BFNA HC's, y dos días, para el caso de hongos HC's). Los medios de cultivos utilizados fueron: 1) para BFNA, el medio Rennie (1981) y 2) para BFNA HC's, el medio Rennie (1981) modificado por Hernández *et al.* (2003a). En cuanto al crecimiento de hongos HC's, se utilizó el medio Eggins y Pugh (Leander y Curl, 1972) y se excluyó la fuente de carbono.

La clasificación de suelos se realizó utilizando la Referencia Mundial del Recurso Suelo (FAO, 1998).

Los resultados microbiológicos de los sitios de muestreo se analizaron estadísticamente, utilizando el programa Statistical Analysis System, Versión 6 (SAS Institute, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características Químicas y Físicas del Perfil de Suelo

Los suelos presentan una clase textural migajón arenosa, pH muy ácido, contenido de materia orgánica medio, conductividad eléctrica baja, capacidad de intercambio catiónico baja y porcentaje de saturación de bases de medio a alto (Cuadro 1).

En lo referente a la textura, predominó la fracción arena en el suelo, en la cual destaca principalmente el cuarzo. Se conoce que cuando existe en el suelo mayor porcentaje de arena, los procesos de biorremediación pueden llevarse a cabo con más éxito. Los resultados indican que el pH ácido (< 4.5) es limitante para los procesos de biodegradación, ya que el valor óptimo debe ser lo más cercano al neutro o encontrarse en intervalos de 6 a 8 (Alexander, 1999). El contenido de materia orgánica varió en los horizontes del perfil; en general, se presenta un contenido de pobre a medio (Cuadro 1). Estos datos indican que la profundidad a la cual puede ocurrir con mayor éxito la biorremediación es hasta 59 cm.

Los datos de conductividad eléctrica indican que el suelo puede ser biorremediado con éxito, ya que la concentración de sales fue muy baja.

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) y el porcentaje de saturación de bases (PSB) son dos determinaciones que se encuentran relacionadas. Se conoce que mientras mayor sea el contenido de arcillas (2:1), la CIC aumentará (Ortiz-Villanueva y Ortiz-Solorio, 1990); además de las arcillas, la materia orgánica juega un papel similar, al tener ambos la propiedad de ser coloides del suelo. Los valores obtenidos en el perfil de suelo para CIC indicaron que es baja, característica de los suelos arenosos cuarzosos, lo que significa que si no hay cargas en las partículas, los cationes serán eliminados del perfil.

Los datos obtenidos en el análisis del perfil de suelo indicaron que el PSB fluctúa entre los intervalos bajo y medio (Vázquez y Bautista, 1993). Lo anterior significa que es necesario agregar al suelo fertilizantes a base de Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^{+} , ya que se requiere que el suelo tenga los nutrientes necesarios para que los microorganismos y las plantas actúen eficientemente en los procesos de biorremediación (Frick *et al.*, 1999).

Clasificación del Suelo

El suelo contaminado con hidrocarburos corresponde a un Fluvisol dystrico, debido a que se formó por depósitos aluviales, marcados por discontinuidades litológicas y con bajo porcentaje de saturación de bases.

Análisis Físicos y Químicos de los Puntos de Muestreo en el Suelo Contaminado

Los valores de pH fueron diferentes en todos los sitios de muestreo, desde muy ácidos hasta ligeramente alcalinos; el contenido de materia orgánica varió de medianamente pobre a extremadamente rico (1.45 a 19.18%) (Cuadro 2). Todos los sitios son ricos en contenido de nitrógeno (0.45 a 1.34%) y deficientes en fósforo (en promedio 2.06 mg kg^{-1}) y en potasio (0.43 meq/100 g) (Cuadro 2), nutrientes importantes para el crecimiento microbiano (Margesin *et al.*, 2000) y de las plantas. Para fines de fitorremediación, se recomienda realizar aplicaciones de estos nutrientes.

En lo referente a la textura del suelo, en general, se presentó un mayor porcentaje de arena que de limo y arcilla, situación que favorece los procesos de biorremediación.

Cuadro 1. Resultado de los análisis químicos y físicos realizados al perfil del suelo.

Número de capa/Profundidad	Arena	Limo	Arcilla	Textura	pH		Materia orgánica	Carbonato de calcio	CE [†]
					H ₂ O 1:2	KCl 1:2			
cm	%						%	dS m ⁻¹	
A (0 a 25)	38.20	39.01	22.70	Franco	4.2	3.8	2.10	0.45	0.05
2 C (25 a 54)	67.10	19.71	13.10	Migajón arenoso	4.4	3.9	2.10	0.42	0.02
3 C (55 a 59)	73.60	15.61	10.70	Migajón arenoso	4.5	3.9	3.50	0.53	0.02
4 C (59 a 75)	64.80	17.21	17.90	Migajón arenoso	4.3	3.8	1.05	0.49	0.05
5 C (50 a 65)	68.60	13.41	17.90	Migajón arenoso	4.3	3.8	0.58	0.45	0.04

Número de capa/Profundidad	CIC [‡]	Cationes intercambiables				PSB [§]
		Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺	
cm	cmol _c kg ⁻¹	mg kg ⁻¹				%
A (0 a 25)	11.37	1.50	1.00	0.02	0.06	22.61
2 C (25 a 54)	6.53	2.00	0.50	0	0.02	38.61
3 C (55 a 59)	8.90	1.00	1.50	0	0.12	29.40
4 C (59 a 75)	11.77	2.50	0	0	0.02	21.41
5 C (50 a 65)	11.67	2.00	0.50	0	0.09	22.15

[†] CE = conductividad eléctrica; [‡] CIC = capacidad de intercambio catiónico; [§] PSB = porcentaje de saturación de bases.

Con respecto a la concentración de hidrocarburos totales de petróleo (HTP), en los sitios de muestreo se encontró que éstos fluctúan entre 400 y 367 000 mg kg⁻¹ en el suelo. Oliver *et al.* (1993) señalaron que los límites permisibles de hidrocarburos en los suelos van de 100 a 1000 mg kg⁻¹, mientras que Günther *et al.* (1996) reportaron valores de 400 a 5000 mg kg⁻¹ de HTP, para suelos que pueden ser tratados siguiendo las tecnologías de fitorremediación. Las concentraciones que se encontraron en los sitios de muestreo rebasan cualquier límite permisible, aunque no se sabe si se puedan fitorremediar por la alta acumulación de hidrocarburos.

Las características físicas y químicas de los Fluvisoles contaminados con hidrocarburos permiten que éstos sean susceptibles de someterse a biorremediación. La textura arenosa dominante facilita la oxidación de los hidrocarburos. Gutiérrez y Zavala (2002) encontraron que en este tipo de suelos, pero localizados en Tabasco, se presentan menos hidrocarburos que en otros suelos con drenaje restringido. En estos suelos hay poca arcilla y, por lo tanto, el fenómeno de adsorber o fijar a los hidrocarburos es mínimo y el hidrocarburo puede quedar disponible para la degradación por parte de los microorganismos del suelo (Huang, 1990). No hay sales que puedan influir en la velocidad del metabolismo de los hidrocarburos (Leahy y Cowell, 1990) y la materia orgánica, al estar en bajas y moderadas concentraciones, no tiene afinidad con

los contaminantes del suelo, por lo cual no es un factor que dificulte su biorremediación (Senesi, 1993).

En cuanto a las propiedades del suelo que pueden retardar los procesos de fitorremediación se encuentran: 1) el pH, ya que el valor óptimo debe ser lo más cercano al neutro o encontrarse entre 6 y 8 (Alexander, 1999) y 2) la baja concentración de cationes, como Ca, Mg y K (Cuadro 1). Para corregir el problema de la baja concentración de cationes, es necesario agregar al suelo fertilizante a base de este tipo de cationes, para que la fitorremediación se lleve a cabo adecuadamente (Frick *et al.*, 1999).

En cuanto a la variabilidad de las propiedades del suelo en la superficie, el pH cambia de moderadamente ácido a ligeramente alcalino, en una superficie de no más de 500 m². Esto puede tener relación estrecha con el tipo de vegetación; por ejemplo, *Panicum* sp. creció en un pH ácido, mientras que *Chamaecrista nictitans* lo hizo en un pH alcalino. Las condiciones ambientales subtropicales de Minatitlán, la textura gruesa dominada por arena y el buen drenaje favorecen el lixiviado de las bases y, por lo tanto, el pH dominante en el área es ácido. Sin embargo, *Chamaecrista nictitans* favorece el incremento de pH hasta ligeramente alcalino.

De acuerdo con las recomendaciones de Günther *et al.* (1996), de los nueve sitios de muestreo, el Sitio 5 presentó el mayor número de características químicas y físicas favorables para los procesos de biodegradación:

Cuadro 2. Resultados de los análisis físicos, químicos y florísticos de los sitios de muestreo.

Sitio de muestreo	HTP suelo rizosférico mg kg ⁻¹	pH		Materia orgánica %	N %	P mg kg ⁻¹	K meq/100 g
		H ₂ O (1:2)	KCl (1:2)				
Sitio 1 <i>Panicum</i> sp.	184 170	3.70	3.50	7.26	0.45	4.10	1.11
Sitio 2 <i>Panicum</i> sp.	367 000	6.70	6.40	19.18	1.34	1.30	0.13
Sitio 3 <i>Panicum</i> sp.	600	4.20	3.80	1.45	0.45	8.02	0.19
Sitio 4 <i>Panicum</i> sp.	400	4.50	3.80	1.50	0.60	2.98	0.22
Sitio 5 <i>Chamaecrista nictitans</i>	4 600	7.90	7.60	4.00	0.60	1.86	0.32
Sitio 6 <i>Chamaecrista nictitans</i>	4 800	7.80	7.80	5.30	0.90	1.02	0.22
Sitio 7 <i>Chamaecrista nictitans</i>	24 000	7.00	6.30	7.80	0.75	1.86	0.32
Sitio 8 <i>Cynodon</i> sp.	ND	5.25	4.55	7.50	1.04	0.74	0.82
Sitio 9 <i>Andropogon</i> sp.	7 500	5.40	4.80	8.30	1.04	1.30	0.95

Sitio de muestreo	Tamaño de partículas			Textura
	Arena	Limo	Arcilla	
	----- % -----			
Sitio 1 <i>Panicum</i> sp.	37.6	36.41	25.99	Franco
Sitio 2 <i>Panicum</i> sp.	15.9	74.91	9.19	Migajón limoso
Sitio 3 <i>Panicum</i> sp.	87.2	10.01	2.79	Arena
Sitio 4 <i>Panicum</i> sp.	79.1	17.31	3.59	Arena migajosa
Sitio 5 <i>Chamaecrista nictitans</i>	74.9	18.31	6.79	Migajón arenoso
Sitio 6 <i>Chamaecrista nictitans</i>	57.8	27.41	14.79	Migajón arenoso
Sitio 7 <i>Chamaecrista nictitans</i>	59.3	29.11	11.59	Migajón arenoso
Sitio 8 <i>Cynodon</i> sp.	41.5	51.71	6.79	Migajón limoso
Sitio 9 <i>Andropogon</i> sp.	40.9	53.11	5.99	Migajón limoso

HTP = hidrocarburos totales de petróleo.

concentración media de HTP (con respecto a la concentración más alta), pH cercano al neutro, contenidos de nitrógeno y potasio suficientes para los requerimientos microbianos y plantas, y, por último, una textura migajón arenosa. Las características adversas fueron el contenido alto de materia orgánica y la pobre concentración de fósforo, mismas que pueden corregirse aplicando prácticas agrícolas o de bioestimulación microbiana (Korda *et al.*, 1997).

El Sitio 2 (donde creció *Panicum* sp.) presenta mayores problemas para la biorremediación, principalmente por la alta concentración de HTP. Sin embargo, se conoce que en suelos contaminados con petróleo, donde crece *Panicum* sp., se establece una simbiosis micorrízica, lo que puede ser un elemento importante en el crecimiento y mantenimiento de las plantas en tales condiciones, debido posiblemente a efectos indirectos relacionados con una mejor nutrición y crecimiento de las plantas, a pesar de estar expuestas a la contaminación (Leyval y Binet, 1998).

El Sitio 6 (donde creció *Chamaecrista nictitans*) también es el más apropiado para aplicar este tipo de

tecnologías (Margesin *et al.*, 2000). Leyval y Binet (1998) señalaron que el efecto de las raíces de las plantas en la disipación de contaminantes como el petróleo se debe principalmente al mejoramiento de las condiciones físicas y químicas del suelo; lo anterior se debe a los exudados radicales que incrementan la degradación de contaminantes y favorecen el desarrollo de comunidades microbianas de la rizosfera.

En los demás sitios de muestreo pueden realizarse prácticas agrícolas que favorezcan las condiciones del suelo; por ejemplo: encalar los sitios donde el pH sea muy ácido (Sitios 1 y 3) (Brady y Weil, 1999) o estimular la actividad microbiana en el suelo mediante la aplicación de nutrientes o incorporando oxígeno, para que los microorganismos degraden mayores cantidades de materia orgánica (Sitio 2) (Frick *et al.*, 1999).

Identificación Taxonómica de las Plantas.

En los sitios muestreados se encontraron cuatro plantas. Una de ellas se identificó a nivel de género y especie, y las otras tres sólo a nivel de género:

Chamaecrista nictitans, un arbusto de la familia leguminosae (Sitios 5, 6 y 7); *Panicum* sp. (Sitios 1, 2, 3 y 4), *Cynodon* sp. (Sitio 8) y *Andropogon* sp. (Sitio 9), pastos tropicales que pertenecen a la familia Gramineae. Las dos primeras especies fueron dominantes en los sitios estudiados.

Poblaciones Rizosféricas de Hongos HC's, BFNA, BFNA HC's

Al evaluar los resultados de las poblaciones de hongos HC's, los análisis estadísticos mostraron diferencias altamente significativas (Tukey, $P = 0.05$) entre los sitios de muestreo. Las rizosferas de *Panicum* sp., en los Sitios 1 y 3, mostraron los valores más altos, seguidas por la rizosfera de *Andropogon* sp., en el Sitio 9. En general, se observó que las plantas gramíneas permitieron las poblaciones más numerosas de este grupo microbiano (Cuadro 3). Las rizosferas de *Panicum* sp., en los Sitios 1 y 3, mostraron los valores más altos, seguidas por la rizosfera de *Andropogon* sp., en el Sitio 9. En general, se observó que las plantas gramíneas permitieron las poblaciones más numerosas de este grupo microbiano (Cuadro 3).

La rizosfera de *Chamaecrista nictitans*, en el Sitio 5, presentó las poblaciones más altas de BFNA (208×10^5 UFC g^{-1} de suelo) y poblaciones de BFNA HC's (164×10^5 UFC g^{-1}), sitio que presentó una concentración alta de hidrocarburos (4600 mg kg^{-1}). Al respecto, Radwan *et al.* (1995) indicaron que en la rizosfera de maíz contaminada con petróleo existen mayores poblaciones de bacterias que de hongos.

Los resultados obtenidos en esta investigación fueron superiores a los reportados por Hernández *et al.* (2003a), quienes evaluaron poblaciones de BFNA en la rizosfera de frijol contaminada por un complejo de hidrocarburos y encontraron una población de 18.7×10^4 UFC g^{-1} de raíz. Es importante resaltar que el estudio de Hernández *et al.* (2003a) se realizó en invernadero y la presente investigación en campo.

En cuanto a las poblaciones de hongos HC's, éstas se presentaron en la rizosfera de *Panicum* sp. del Sitio 3, donde se encontró la concentración más baja de hidrocarburos (600 mg kg^{-1}) (Cuadro 3).

Se reconoce la capacidad de los hongos para degradar hidrocarburos del petróleo, que existe potencial de utilizar hongos en programas de biodegradación de contaminantes en las zonas tropicales y que éstos son capaces de biodegradar petróleo en las zonas que rodean a las raíces (Radwan *et al.*, 1995). Lo anterior fundamenta los resultados obtenidos en este trabajo en los nueve sitios de muestreo analizados en la zona del trópico-húmedo de México (Minatitlán, Veracruz).

En cuanto a las BFNA HC's, éstas pertenecen a un grupo microbiano que se ha estudiado durante los últimos seis años en instituciones mexicanas y se conoce que tienen la capacidad de fijar N atmosférico y de utilizar al hidrocarburo como fuente de carbono (Hernández *et al.*, 2003b). La importancia de estas bacterias en suelos contaminados radica en que pueden proporcionar N a las plantas, situación que las favorece a crecer en estos sitios, en los cuales, por lo general, existen deficiencias de nitrógeno (Margesin *et al.*, 2000).

Dado que existe una gran variabilidad en las condiciones físicas y químicas del suelo, una de

Cuadro 3. Poblaciones rizosféricas de hongos HC's, BFNA y BFNA HC's de plantas que crecen en suelo contaminado con petróleo.

Sitio de muestro	HTP suelo rizosférico mg kg^{-1}	1×10^3 HHC's [†]	1×10^5 BFNA [‡] UFC g^{-1} suelo rizosférico	1×10^5 BFNA HC's [§]
Sitio 1 <i>Panicum</i> sp.	184 170	123.00	121.40	91.78
Sitio 2 <i>Panicum</i> sp.	367 000	13.78	58.89	122.20
Sitio 3 <i>Panicum</i> sp.	600	162.80	105.10	108.70
Sitio 4 <i>Panicum</i> sp.	400	60.67	119.20	148.70
Sitio 5 <i>Chamaecrista nictitans</i>	4 600	63.33	208.10	164.40
Sitio 6 <i>Chamaecrista nictitans</i>	4 800	71.67	92.11	87.00
Sitio 7 <i>Chamaecrista nictitans</i>	24 000	48.00	24.22	30.00
Sitio 8 <i>Cynodon</i> sp.	ND	72.89	76.44	61.11
Sitio 9 <i>Andropogon</i> sp.	7 500	122.90	24.67	83.56

[†] HTP = hidrocarburos totales de petróleo; [‡] HHC's = hongos hidrocarbonoclastas; [§] BFNA = bacterias fijadoras de N atmosférico; # BFNA HC's = bacterias fijadoras de N atmosférico HC's; UFC = unidades formadoras de colonias.

las recomendaciones que se hacen ante esta situación es estimular y aumentar las poblaciones de bacterias y hongos hidrocarbonoclastas, mediante algunas prácticas agronómicas, como aireación del suelo, incorporación de nutrientes y aplicación de riego (Frick *et al.*, 1999).

CONCLUSIONES

- Los suelos estudiados en Minatitlán, Veracruz, México presentaron concentraciones muy altas de hidrocarburos, mismas que rebasan los límites permisibles.
- En dichas condiciones de contaminación, los suelos presentaron deficiencias nutrimentales para el crecimiento adecuado de los microorganismos y plantas responsables de los procesos de bioremediación.
- En los suelos estudiados crecen las plantas *Chamaecrista nictitans*, *Panicum* sp., *Cynodon* sp. y *Andropogon* sp.; mismas que mantienen poblaciones hidrocarbonoclastas de bacterias fijadoras de N atmosférico y hongos, las cuales podrían ser participes de los procesos de biodegradación junto con otros organismos que habitan la rizosfera de dichas especies.
- Se sugiere ampliar estudios rizosféricos sobre especies de plantas y microorganismos que crecen en sitios contaminados por compuestos orgánicos.

LITERATURA CITADA

- Alexander, M. A. 1999. Biodegradation and bioremediation. Second edition. Academic Press. San Diego, CA, USA.
- Banks, M. K, R. S. Govindaraju, A. P. Schwab y P. Kulakow. 2000. Demonstration introduction and technology overview. pp. 7-8. *In*: S. Fiorenza, C. L. Oubre y C.H. Ward (eds.). Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soil. Lewis Publishers. Boca Raton, FL, USA.
- Braddock, J. F., M. L. Ruth, P. H. Catterall, J. L. Walworth y K. A. McCarthy. 1997. Enhancement and inhibition of microbial activity in hydrocarbon-contaminated arctic soils: implications for nutrient-amended bioremediation. *Environ. Sci. Technol.* 31: 2078-2084.
- Brady, N. C. y R. R. Weil. 1999. Elements of the nature and properties of soils. 12th edition. Prentice-Hall. Upper Saddle River, NJ, USA.
- Clark, F. E. 1965. Agar plate method for total microbial count. pp. 1460-1466. *In*: C. A. Black (ed.). Methods of soil analysis. Agronomy 9. Part 2. American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.
- Cuanalo de la C., H. E. 1975. Manual para la descripción de perfiles de suelo en el campo. Rama de Suelos, Colegio de Postgraduados. Chapingo, estado de México.
- EPA (Environmental Protection Agency). 1986. Method 418.1 mod. Petroleum hydrocarbons total recoverable spectrophotometric infrared. Washington, DC, USA.
- EPA (Environmental Protection Agency). 2003. Index to EPA test methods, US EPA Method 3540A, Soxhlet Extraction. New England Region 1 Library. Boston, MA, USA.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 1998. World Reference Base for Soil Resource. World soil resources. Report 84. Roma, Italy.
- Finn, J. 2000. Technology design/evaluation. Performance and potential application. Part II. pp. 125-134. *In*: S. Fiorenza, C. L. Oubre y C. H. Ward (eds.). Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soil. Lewis Publishers. Boca Raton, FL, USA.
- Fiorenza, S., C. L. Oubre y C. H. Ward. 2000. Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soil. Lewis Publishers. Boca Raton, FL, USA.
- Frick, C. M., R. E. Farrell y J. J. Germida. 1999. Assessment of phytoremediation as an *in-situ* technique for clearing oil-contaminated sites. Department of Soil Science, University of Saskatchewan. Saskatoon, SK, Canada.
- Godbout, J. G., Y. Comeau y C. W. Greer. 1995. Soil characteristics effects on introduced bacterial survival and activity. pp. 115-120. *In*: R. E. Hinchey, J. Fredrickson y B. C. Alleman (eds.). Bioaugmentation for site remediation. Batelle Press. Columbus, OH, USA.
- Günther, T., V. Dornberger y W. Fritsche. 1996. Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere* 33: 203-215.
- Gutiérrez C., Ma. del C. y J. Zavala C. 2002. Rasgos hidromórficos de suelos tropicales contaminados con hidrocarburos. *Terra* 20: 101-111.
- Hernández A., E., R. Ferrera-Cerrato y R. Rodríguez-Vázquez. 2003a. Bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno atmosférico en rizosfera de frijol contaminada con queroseno. *Terra* 21: 81-89.
- Hernández-Acosta, E., R. Ferrera-Cerrato, Ma. del C. Gutiérrez-Castorena, R. Rodríguez-Vázquez., J. E. Rubiños-Panta y L. Fernández-Linares. 2003b. Bacterias y hongos hidrocarbonoclastas de rizósfera frijol y maíz en un suelo contaminado con petróleo. *Terra* 21: 493-502.
- Huang, P. M. 1990. Role of soil minerals in transformations of natural organics and xenobiotics in the environment. pp. 29-115. *In*: J. M. Bollag y G. Stotzky (eds.). Soil biochemistry. Vol. 6. Marcel Dekker. New York, NY, USA.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). 1995. Minatitlán, estado de Veracruz: cuaderno estadístico municipal. Edición 1994. Gobierno del Estado de Veracruz-H. Ayuntamiento Constitucional de Minatitlán. Xalapa, Veracruz, México.
- Korda, A., P. Santas, A. Tenente y R. Santas. 1997. Petroleum hydrocarbon bioremediation: sampling and analytical techniques, *in situ* treatments and commercial microorganisms currently used. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48: 677-686.
- Leahy, J. G. y R. R. Cowell. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Rev.* 54: 305-315.
- Leander, F. J. y E. A. Curl. 1972. Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens. Burgess Publishing. Minneapolis, CO, USA.
- Leyval, C. y P. Binet. 1998. Effect of polyaromatic hydrocarbons in soil arbuscular mycorrhizal plants. *J. Environ. Qual.* 327: 402-407.

- Margesin, R., A. Zimmerbauer y F. Schinner. 2000. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. *Chemosphere* 40: 339-346.
- Oliver, T., P. Kostechi y E. Calabrese. 1993. State summary of soil and groundwater cleanup standards for hydrocarbons. Association for the Environmental Health of Soils. EPA Office of Underground Storage Tanks. Washington, DC, USA.
- Ortiz-Villanueva, B. y C. A. Ortiz-Solorio. 1990. Edafología. Séptima edición. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Suelos. Chapingo, estado de México.
- Parkinson, D. 1982. Filamentous fungi. pp. 949-953. *In*: A. L. Page (ed.). *Methods of soil analysis*. Agronomy 9. Part 2. American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.
- Radwan, S., N. Sorkhoh e I. El-Nemr. 1995. Oil biodegradation around roots. *Nature* 376:302.
- Rennie, R. J. 1981. A single medium for the isolation of acetylene-reducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Can. J. Microbiol.* 27:8-14.
- SAS Institute. 1989. SAS/IML software: usage and reference. Release 6. SAS Institute. Cary, NC, USA.
- Senesi, N. 1993. Organic pollutant migration in soils as affected by soil organic matter. Molecular and mechanistic aspects. pp. 27-45. *In*: P. Domenico y F. G. Helfferich (eds.). *Migration and fate of pollutants in soils and subsoils*. NATO ASI Series G. Ecological Sciences. New York, NY, USA.
- Thermo Electron Corporation. 2000. Program EZ OMNIC E. S. P. Release 5.1. Waltham, MA, USA.
- Van Reeuwijk, L. P. 1995. Procedimientos para análisis de suelos. Trad. al español por M.C. Gutiérrez C., C. A. Tavarez E. y C. A. Ortiz S. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México.
- Vázquez A., A. y A. N. Bautista. 1993. Guía para interpretar el análisis químico de suelo y agua. Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, estado de México.