

## Efecto de la concentración de hidrocarburos sobre la producción del pasto (*Brachiaria humidicola*) en Texistepec, Veracruz

Effect of hydrocarbon concentration of pasture production (*Brachiaria humidicola*) in Texistepec, Veracruz

Adams RH, AL Álvarez-Ovando, G Castañón N

**Resumen.** En este trabajo se determinó empíricamente la relación entre la concentración de petróleo crudo extrapesado - meteorizado en un material arcilloso y la toxicidad aguda, capacidad de campo, temperatura y crecimiento de un pasto tropical forrajero (*Brachiaria humidicola*). Para este tipo de hidrocarburo, aún en concentraciones altas (29279 mg/kg), la toxicidad aguda (Microtox®) fue ligera ( $CE_{50}$  = 63200 - 76400 mg/kg). Sin embargo, se presentaron afectaciones serias en términos de incremento en la temperatura del suelo (+1,3 °C), reducciones en la capacidad de campo (-10,7%) y la biomasa aérea (-97%). La relación entre la concentración de hidrocarburos y biomasa aérea se presentó como una función típica de dosis-respuesta ( $r = 0,99$ ), en donde una concentración de 2626 mg/kg de hidrocarburos corresponde a una manutención de 90% o más de biomasa. Además, durante el tiempo del experimento (un año), la biodegradación fue proporcional a la producción de biomasa ( $r = 0,997$ ) indicando una relación sinérgica entre los microorganismos biodegradadores de hidrocarburos del petróleo en la rizósfera del pasto.

**Palabras clave:** Contaminación; Suelo; Capacidad de campo; Dosis-respuesta; Fitorremediación.

**Abstract.** In this study, the relationship between the concentration of extra-heavy crude petroleum in a clayey material and the toxicity, field capacity, temperature, and growth of a tropical forage grass (*Brachiaria humidicola*) was determined empirically. For this type of petroleum the acute toxicity (Microtox®) was slight ( $CE_{50}$  = 63200 - 76400 mg/kg) even at high hydrocarbon concentrations (29279 mg/kg). Nonetheless, serious impacts were encountered in terms of an increase in soil temperature (+ 1.3 °C), reduction in field capacity (-10.7%) and reduction in aerial biomass (-97%). The relationship between hydrocarbon concentration and biomass resulted in a typical dose-response curve ( $r = 0.99$ ), where a concentration of 2626 mg/kg of hydrocarbons corresponds to a maintenance of 90% biomass. Furthermore, during the duration of this study (one year) the biodegradation was proportional to the pasture biomass production ( $r = 0.997$ ) indicating a synergistic relationship between the petroleum biodegrading microorganisms in the rhizosphere and the pasture.

**Keywords:** Contamination; Soil; Dose-response; Field capacity; Phytoremediation.

## INTRODUCCIÓN

El objetivo de los proyectos de remediación de suelos es proteger la salud pública y al ambiente. En esto se incluye la reducción de la toxicidad, potencial de lixiviación y contaminación de cuerpos de agua y acuíferos, así como la restauración de las propiedades físicas y químicas relacionadas con la fertilidad del suelo. Generalmente los primeros dos objetivos son logrados reduciendo la concentración de los contaminantes en el suelo (por ejemplo, implementando biorremediación, lavado de suelo y desorción térmica (Adams et al., 1999; Domínguez-Rodríguez, 2008).

El supuesto sustento teórico de esto es que la toxicidad y potencial de lixiviación están directamente relacionados a la concentración del contaminante: en palabras, si se reduce la concentración, se reduce la toxicidad, lo cual puede ser falso, ya que existen evidencias que demuestran que la toxicidad no tiene relación con la concentración de hidrocarburos en el suelo (Dorn & Salanitro, 2000; Rivera-Cruz & Trujillo-Narcía, 2004; Rivera-Cruz et al., 2005). Sin embargo, hay ciertos tipos de hidrocarburos, sobre todo en la fracción pesada o petróleos muy meteorizados, que pueden afectar la fertilidad del suelo, aunque éstos tengan baja toxicidad (Adams et al., 2006).

Este tipo de hidrocarburos pueden reducir la retención hídrica del suelo, y la repelencia al agua (Adams et al., 2008a). Esto provoca una menor infiltración y mayor escurrimiento de agua, afectando el balance de agua del suelo y la erosión hídrica del mismo. También, reducen la capacidad de retener nutrientes catiónicos durante fuertes precipitaciones (Roy y McGill, 1998). Por otra parte, puede ocurrir la compactación del suelo debido a la acción aglomerante de los asfaltenos, resinas y compuestos polares presentes en altas proporciones en crudos meteorizados, limitando la infiltración del agua, así como la penetración y desarrollo radical (Adams et al., 2008b). La afectación de estas propiedades físicas reduce la fertilidad del suelo, aún en concentraciones menores a 3000 mg/kg de hidrocarburos del petróleo (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003).

Desafortunadamente, las autoridades ambientales en la mayoría de los países donde se extrae petróleo tienen poco conocimiento respecto a dichas afectaciones, propiciando que los criterios (físicos, químicos y biológicos) de fertilidad del suelo no se empleen y/o sean ignorados en los proyectos de remediación de suelos. El resultado es la supuesta "remediación" de sitios contaminados en los que se logra reducir la concentración de hidrocarburos a los niveles requeridos para cumplir con lo establecido por la normativa local, pero en los que el suelo sigue infértil.

Por este tipo de problemática, en el siguiente trabajo se realizó un experimento del tipo dosis-respuesta para determinar empíricamente la relación entre el crecimiento vegetal (biomasa, productividad primaria y tasa de crecimiento) y la concentración de hidrocarburos, con la finalidad de proponer criterios de saneamiento basado en impactos reales a la fertilidad del suelo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta del material contaminado, suelo y preparación de celdas. El material contaminado con hidrocarburos fue colectado en el playón suroeste de la Presa de Agua de Mina en la Unidad Minera Texistepec, Veracruz (17° 52,46' N, 94° 48,06' O). Éste fue extraído con pala recta a una profundidad de 0 - 30 cm. Aunque en este sitio no había vegetación debido a la contaminación (lo que indica cualitativamente problemas de fertilidad), se decidió tomar muestra de material a esta profundidad, porque en la mayoría de los suelos, a esa profundidad es donde se encuentra la mayor actividad radical que soporta cultivos (Porta et al., 2003). Este material estaba compuesto en su mayoría por lodos arcillosos bentoníticos provenientes de recortes y fluidos de perforación de pozos gastados, que fueron utilizados para la extracción de azufre. Dicho material, contenía 71% de partículas finas (arcilla y limo, predominado por minerales expansivos tipo 2:1) y presentó altas concentraciones (~ 5% de hidrocarburo, m/m) de hidrocarburos del mismo yacimiento de azufre (domos salinos).

El material obtenido fue combinado con un suelo (arcilla roja) de baja fertilidad obtenido de un banco de material en la localidad Loma de Caballo, Municipio de Centro, Tabasco (17° 59,91' N, 93° 00,50' O). El banco está situado en lomas muy bajas de tierra roja con un horizonte superficial de tierra negra, y corresponde a un suelo Alisol húmico en el sistema de clasificación WRB (FAO, 2006), según los mapas y descripciones de suelos del estado (Palma-López et al., 2006). De este suelo solo se tomó el material del horizonte B. Palma-López et al. (2006) describen este tipo de suelo en Tabasco como "...suelos ácidos, rojos o amarillos, profundos, de baja fertilidad y altamente intemperizados". Un horizonte B de un perfil típico de este tipo de suelo (subsuelo de Alisol) presentó las siguientes características: pH de 4,6 o menos, materia orgánica  $\leq$  0,68%, CIC: 23 cmol(+)/kg, y saturación de bases: 7,9%.

Este subsuelo se combinó con el material obtenido en la Unidad Minera para obtener mezclas. En base a su densidad y humedad estimada, se combinaron subsuelo (Alisol) y el material contaminado para obtener concentraciones en el rango de aproximadamente 1000-30000 mg/kg de hidrocarburos (m/m, base seca), con diluciones de 1:2. Se eliminó la mezcla correspondiente a 1875 mg/kg, debido a que era muy parecida a las dos mezclas más cercanas (de 937,5 y 3750 mg/kg), y para tener una dispersión mejor de los tratamientos. Al analizar las concentraciones reales de hidrocarburos por métodos químicos, se determinó que correspondían a concentraciones de 732, 3659, 7318, 14635 y 29279 mg/kg (pm/m, base seca) de hidrocarburos totales del petróleo.

Sobre una geomembrana (2 mm de espesor) se construyeron celdas de 0,4 x 0,4 m con 0,2 m de profundidad. Los suelos testigo (material arcilloso sin hidrocarburo) y contaminado a diferentes concentraciones fueron disgregados manualmente

y se depositaron de forma uniforme hasta una altura de 15 cm (aproximadamente 40 kg de muestra). Cada tratamiento se hizo por triplicado obteniendo un total de 18 muestras experimentales divididas en 3 bloques, a las cuales posteriormente se les adicionó fertilizante y se sembró el pasto humidícola. El experimento se realizó durante 16 meses, a la intemperie en un clima tropical monzónico, tipo Am de acuerdo con la clasificación de Köppen (Peel et al., 2007). La temperatura promedio anual es de 28 °C con una precipitación anual de 1800-2000 mm (West et al., 1985; Adams et al., 2002).

**Adición de nutrientes.** Los nutrientes fueron adicionados mediante un fertilizante sólido Grow Feed® en proporción 20-30-10 (20% N, 30% P y 10% K, además de otros elementos traza). La aplicación del fertilizante se realizó según las indicaciones del fabricante (Agro-Grow S.A. de C.V.) para lo cual se preparó a una concentración de 0,146 g/L. Este procedimiento se aplicó solo al inicio del experimento para proporcionar humedad y nutrientes al suelo antes de sembrar el pasto humidícola, dado que el suelo que se utilizó es de baja fertilidad.

**Proceso de sembrado.** El pasto empleado para este estudio fue de la especie *Brachiaria humidicola* debido a que el uso común de éste es para pastoreo, tiene un crecimiento rastrero, crece en suelos de baja fertilidad y posee cierta sensibilidad a la exposición de petróleo crudo. La siembra se llevó a cabo 7 días después de haber agregado el fertilizante. En cada una de las celdas se realizaron 17 puntos de siembra distribuidos en una línea, ubicando 3-4 semillas por punto.

**Caracterización de los hidrocarburos.** Se tomó una muestra de la fase libre del material contaminado y se realizó una caracterización física del petróleo crudo extrapesado-meteorizado al inicio del experimento, con la finalidad de conocer la gravedad API y la proporción de las fracciones de éste.

Debido a la densidad y viscosidad del aceite fue necesario analizar su gravedad específica, por medio de una modificación del método ASTM D 287-92 (método indirecto, Morales-Bautista et al., 2013), que consistió en diluir el petróleo extrapesado-meteorizado (2 a 2,5%) en una mezcla de diesel añejado (gravedad API = 36°) y aceite lubricante multigrado API SL SAE 20W-50W Bardahl® utilizado como solvente en una proporción 1:1 (v/v). Se realizaron entre 4 a 5 lecturas con las cuales se calcularon los °API, graficando la concentración gravimétrica vs. los resultados de densidad API corregidos a 60 °F. Las regresiones lineales fueron extrapoladas para calcular los °API a 100% y éstos fueron comparados contra los valores obtenidos empleando el método del hidrómetro en petróleo crudo puro.

El fraccionamiento de hidrocarburos por columnas se realizó empleando como solventes selectivos: hexano (asfaltenos), hexano-tolueno (alifáticos), tolueno-metanol (aromáticos)

y metanol-acetona (polares) (Wang et al., 1994; Fernández et al., 2006). La cuantificación de las fracciones se calculó en base a su porcentaje en peso.

**Análisis de Hidrocarburos Totales de Petróleo.** Los Hidrocarburos Totales del Petróleo (HTP) se cuantificaron mediante el método EPA 418.1 utilizando percloroetileno (J.T. Baker®) como solvente de extracción en muestras por triplicado (n=3) y se midió en un equipo InfraCal TOG/TPH Analyzer® modelo CVH con una longitud de onda de 3,4 µm (2940/cm) (Mayo-López et al., 2010). La concentración de HTP se calculó empleando curvas de calibración realizadas con soluciones patrón (pre-preparadas por quintuplicado, n=5) de hidrocarburo obtenido del material a tratar. Este parámetro se realizó al inicio y al final del estudio.

**Análisis de toxicidad.** Se evaluó la toxicidad aguda mediante el sistema Microtox® (Azur Environmental) en fase líquida (NMX-AA-112-1995-SCFI) modificado por Mayo-López et al. (2010). Para esta prueba se empleó la bacteria marina bioluminiscente *Vibrio fischeri* (cepa liofilizada, Microbics®). La pérdida de luminiscencia de la bacteria se midió en un luminómetro Microbics® M500 con una longitud de onda de 490 nm y temperatura controlada (15 ± 0,5 °C). La concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) se obtuvo matemáticamente, a partir de la relación dosis-respuesta. Se analizaron todos los datos al inicio y al final del experimento. Para determinar el nivel de toxicidad del suelo se utilizó la escala de toxicidad propuesta por Cornelio (2001), quien reporta un "Nivel umbral" no tóxico, a una Concentración Efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) de 95000 ppm, y especifica la escala que se muestra en la Tabla 1.

**Medición de temperatura.** La temperatura del suelo se midió con un termómetro de acero inoxidable TFA®, cuya escala va de -10 a 90 °C, para lo cual éste se introdujo en el suelo a una profundidad de 10 cm aproximadamente. Esta lectura se tomó entre las 12 y 13 horas del día (tiempo en que se eleva más la temperatura tomando en cuenta la estación del año). Esta medición solo se realizó al inicio del experimento en todas las celdas de tratamiento.

**Capacidad de campo.** La capacidad de campo (CC) se evaluó para todas las celdas de tratamiento por el método de la columna de Colman (NOM-021-SEMARNAT-2000), para lo cual se colocaron 100 g de suelo en un recipiente de paredes rectas con orificios en la base. Luego se agregó agua hasta saturar la muestra, se dejó escurrir durante 24 horas y se pesó la muestra húmeda (Zavala et al., 2005). Posteriormente, la muestra se llevó a peso constante en estufa a 60 °C. El porcentaje de humedad se calculó por diferencia de pesos.

**Medición de biomasa.** A los 30 días de la siembra se realizó un corte de la biomasa aérea, para homogeneizar los tratamien-

**Tabla 1.** Criterios de toxicidad en sedimentos estimados bajo la adecuación en el sistema logarítmico (Cornelio, 2001).**Table 1.** Toxicity criteria in sediments based on adjustment to the logarithmic system (Cornelio, 2001).

Nivel	CE50 ppm	UT
No Tóxico/Casi Nulo	≥95000	<10,5
Indeterminado	84700 - 95000	10,5 - 11,8
Ligeramente Tóxico	58900 - 84700	11,8 - 16,98
Tóxico	36000 - 58900	16,98 - 27,78
Muy Tóxico	<3600	>27,78

$UT = \frac{1}{CE_{50}}$  ;  $CE_{50}$  = concentración como proporción a la que se ve reflejada el 50% de la bioluminiscencia en el bioensayo.

$UT = \frac{1}{CE_{50}}$  ;  $EC_{50}$  = concentration as a proportion in which a 50% reduction in bioluminescence is observed in the bioassay.

tos. Al cabo de 31 días de rebrote se realizó la cosecha de biomasa para su análisis. Ésta fue cortada con tijera de jardinería, procurando dejar el pasto de 3 a 5 cm de altura (simulando el pastoreo del ganado). La biomasa colectada se colocó en bolsas medianas (previamente pesadas) y se determinó el peso húmedo de la muestra. Posteriormente, se puso a secar en una estufa a una temperatura entre 60 y 70 °C por un período de 18 a 24 horas. Transcurrido este lapso de tiempo se registró el peso seco y la biomasa se calculó por diferencia de peso. Los siguientes cortes se realizaron cada 2 meses hasta llegar a la fase final (16 meses) obteniendo un total de 8 cortes. La producción primaria anual se calculó sumando la biomasa obtenida para los últimos 6 cortes (2 meses c/u o 12 meses en total).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización del petróleo extrapesado-meteorizado.

El hidrocarburo tuvo una gravedad específica (corregida a 15,6 °C) de 1,05 g/cm<sup>3</sup>, correspondiendo a 3,4 °API. Este dato es importante ya que los valores de los grados API más bajos reportados para petróleo crudo son para las arenas bituminosas de Venezuela (8-9,5 °API, correspondiendo a 1,014 - 1,004 g/cm<sup>3</sup>, Dusseault, 2001; Mommer, 2004) y de Alberta, Canadá (6 °API, correspondiendo a 1,029 g/cm<sup>3</sup>, Adams et al., 2005). Por tal razón, el aceite en el suelo en el presente trabajo fue mucho más pesado (y potencialmente, más contaminante) que lo encontrado en petróleos crudos explotados comercialmente.

Es necesario mencionar que el petróleo extrapesado empleado para este estudio estuvo expuesto durante dos décadas a procesos de meteorización, por lo que la proporción de ciertos componentes (fracción volátil y/o hidrocarburos más fácilmente biodegradables) se redujo. Esto resultó en que los compuestos de mayor peso molecular (asfáltenos) del petróleo afectaran su viscosidad (Hinkle et al., 2008) y fuese imposible medir la gravedad API por medio del método convencional (ASTM D 287-92). Debido a esto, se optó por el método in-

directo (Morales-Bautista et al., 2013) para el cual se pueden emplear pequeñas cantidades de hidrocarburos residuales.

En cuanto al fraccionamiento del hidrocarburo por columna empleando solventes selectivos, los resultados indicaron un alto contenido de fracciones pesadas. Casi 50% estuvo compuesto por las fracciones de asfáltenos+polares+resinas, 20,6% son aromáticos (polinucleares), y 29,6% fueron alifáticos. Estos dos últimos datos resultan de suma importancia ya que demuestran que un petróleo meteorizado aún puede contener proporciones significativas de las fracciones aromática y alifática. Sin embargo, los compuestos contenidos en estas fracciones son hidrocarburos de cadena larga, ramificados y/o cíclicos, y aromáticos polinucleares (HAP). Es decir, compuestos de alto peso molecular (>C25), no biodisponibles (Trindade et al., 2004), con bajo coeficiente de volatilización y puntos de ebullición por arriba de 260 °C (Lamus et al., 2011).

Por otra parte, cabe mencionar que 30,1% de la composición del petróleo extrapesado-meteorizado no fue soluble en hexano (asfáltenos), por lo cual no fueron cuantificados según los métodos recomendados por la NOM-138-SEMARNAT/SS-2003 (UJAT, 2010). Se producen errores en la cuantificación de HTP por el método EPA 418.1 si se emplea hexano como solvente de extracción. Por esta razón, concordamos con lo propuesto por Infante et al. (2010), quienes señalan que es de suma importancia que en las determinaciones de HTP en suelos se considere el tipo de solvente y las condiciones para la extracción.

**Toxicidad aguda.** Los resultados de toxicidad aguda se presentan en la Tabla 2. En ésta, se observa una tendencia leve de presentar mayor toxicidad a mayor concentración de hidrocarburos al inicio del experimento, aunque no se pudo mostrar estadísticamente. El tratamiento con la menor concentración (732 ppm) no presentó toxicidad. Sin embargo, al final del experimento la toxicidad se redujo a niveles no tóxicos (casi nulos en todos los tratamientos). Esto pudo haberse debido a los procesos de volatilización de la fracción semivolátil (HAP y

alifáticos de cadena larga y/o cíclicos) (Gustafson et al., 1997), transformación u oxidación biológica (mineralización) de los asfaltenos (Pineda-Flores et al., 2002; Fernández et al., 2008), y descomposición de los hidrocarburos por los microorganismos (humificación) (Das y Chandran, 2011), y el mismo pasto (rizobiodegradación) (Corgié et al., 2003; Kaimi et al., 2007; Miranda-Martínez et al., 2007; Toledo et al., 2009).

No es probable que la toxicidad de los hidrocarburos residuales en este suelo juegue un papel importante en el desarrollo de la planta. Otros investigadores han encontrado relaciones similares (Dorn y Salanito, 2000; Rivera-Cruz y Trujillo-Narcía, 2004; Rivera-Cruz et al., 2005). Escalante (2000) encontró una reducción significativa en el desarrollo de *Cyperus laxus* aún a concentraciones residuales de hidrocarburos que no presentaron toxicidad en bioensayos con lombrices (*Eisenia foetida*).

**Relación entre concentración de HTP y capacidad de campo.** Se encontró correlación lineal negativa entre estos dos parámetros ( $r = -0,996$ ) mostrando que la capacidad de campo disminuyó conforme se incrementó la concentración de hidrocarburo (Tabla 3); es decir, se obtuvo un mayor porcentaje

de capacidad de campo (35,57%) a menor concentración de hidrocarburo (732 ppm HTP), mientras que a la mayor concentración (29270 ppm HTP), la CC fue menor (31,78%). Adams et al. (2008b) reportaron un comportamiento similar del efecto de los hidrocarburos sobre la CC en suelo arenoso y arcilloso. Este resultado se debe a que la interacción electrostática entre las fracciones de arcilla (de carga eléctrica negativa) y el agua (polar) es interrumpida cuando los hidrocarburos (esencialmente polares o de muy baja polaridad) cubren la superficie de las partículas del suelo (Trofimov y Rozanova, 2003), reduciendo así su capacidad de retención de agua (Adams et al., 2008a).

Por otra parte, algunos suelos contaminados con petróleo crudo después de varios años o décadas de exposición pueden desarrollar niveles severos de repelencia al agua. Esta condición es altamente resistente a procesos de meteorización y se propaga lateralmente por dispersión mecánica. Estos efectos pueden ser atribuidos a la absorción de compuestos de las fases líquida y gaseosa del petróleo (Roy & McGill, 1999b). La repelencia al agua afecta a la infiltración, evaporación, erosión y el balance hidrológico del suelo (Leelamanie et al., 2008).

**Tabla 2.** Determinación de la toxicidad aguda en las diferentes concentraciones de hidrocarburos.

**Table 2.** Acute toxicity determination at different hydrocarbon concentrations.

Concentración HTP (mg/kg)	Toxicidad					
	Inicial			Final		
	CE <sub>50</sub>	UT	Clasificación	CE <sub>50</sub>	UT	Clasificación
0	87689	11,40	Indeterminado	100000	10,00	No Tóxico/Casi Nulo
732	121768	8,21	No Tóxico/Casi Nulo	100000	10,00	No Tóxico/Casi Nulo
3659	71565	13,97	Ligeramente Tóxico	100000	10,00	No Tóxico/Casi Nulo
7318	76717	13,03	Ligeramente Tóxico	100000	10,00	No Tóxico/Casi Nulo
14635	63957	15,64	Ligeramente Tóxico	100000	10,00	No Tóxico/Casi Nulo
29270	79563	12,57	Ligeramente Tóxico	100000	10,00	No Tóxico/Casi Nulo

**Tabla 3.** Relación entre la capacidad de campo, temperatura y concentración de HTP en la producción de biomasa.

**Table 3.** Relationship between field capacity, temperature and TPH concentration on biomass production.

Concentración* de HTP (mg/kg) Inicial	Concentración* de HTP (mg/kg) Final	CC (%)	Temp. (°C)	Biomasa (g)
0	0	41,44	51,66	5,59
732	167	35,57	51,66	9,66
3659	1183	35,15	52,00	8,01
7318	3655	34,66	52,00	2,47
14635	10763	33,42	52,66	0,35
29270	27610	31,78	53,00	0,30

\* Cada valor es el promedio de n=3.

\* Each value is the mean of n=3.

**Relación entre concentración de hidrocarburo, temperatura y capacidad de campo.** En la Tabla 3 se observa que la temperatura del suelo se incrementó proporcionalmente a la concentración de HTP ( $r=0,933$ ), es decir a mayor concentración de HTP, mayor temperatura. Estos incrementos alcanzaron hasta  $+1,3\text{ }^{\circ}\text{C}$  para la mayor concentración ( $29270\text{ mg/kg}$ ). Este resultado se debe a que cuanto mayor es la concentración de hidrocarburo en el suelo, éste se torna de un color más oscuro y modifica la absorción de la radiación solar disminuyendo las pérdidas por calor latente, produciendo cambios en el balance de energía (Garbi et al., 2001). Estos cambios afectan las condiciones del medio y la velocidad a la que actúan procesos como la descomposición de materia orgánica, absorción de agua y nutrientes, fotosíntesis y respiración, que influyen en forma directa o indirecta en la germinación, emergencia, crecimiento inicial y desarrollo radical de las plantas (Porta-Casanellas et al., 2003).

Se presentó una correlación lineal negativa ( $r= -0,977$ ) entre la capacidad de campo y la temperatura del suelo, es decir a menor CC, mayor temperatura. Esto se puede explicar debido al efecto de enfriamiento por la evaporación del agua. Si el suelo tiene mayor capacidad de campo, es probable que pueda captar y retener más humedad durante los periodos de precipitación. Si tiene un alto porcentaje de humedad, esto puede reducir la temperatura. Parte de la energía cinética en el suelo puede ser gastada en convertir la humedad en el suelo a vapor, en vez de incrementar la temperatura del suelo, manteniendo la temperatura más moderada. Cuando se reduce la CC (debido al hidrocarburo), el suelo seco disipa una cantidad creciente como flujo de calor, aumentando la temperatura del suelo (Russell y Wild, 1992). Estos incrementos pueden ser una limitante importante para la producción del pasto, y el crecimiento y desarrollo de las poblaciones de microorganismos en el suelo. La temperatura ideal de la zona radical para la germinación y crecimiento de muchos cultivos esta entre  $25$  y  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Porta-Casanellas et al., 2003). En áreas tropicales y húmedas es muy raro que la temperatura del aire exceda los  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Peters et al., 2003).

**Relación entre la biomasa y la concentración de hidrocarburos.** En la Figura 1 se presenta una curva matemática de dosis-respuesta ( $r=0,991$ ) para el primer corte del pasto (a los 61 días), para la cual se asumió una producción máxima al nivel de la muestra con  $732\text{ mg/kg}$ , que pareció experimentar una pequeña estimulación con respecto a la muestra sin hidrocarburos. La producción de biomasa disminuyó conforme aumentó la concentración de HTP. Con respecto a la muestra con  $732\text{ mg/kg}$ , esta reducción alcanzó hasta un 95% en la muestra con la concentración más alta ( $29270\text{ ppm}$ ). Otros investigadores han reportado este mismo comportamiento en pastos Egipto (*Brachiaria mutica*) (Zavala et al., 2005; Adams et al., 2009), Alemán (*Echinochloa polystachya*) (Sánchez-García et al., 2004), Guinea (*Panicum maximun*) (Hernández y

Mager, 2003), y Brizantha (*Brachiaria brizantha*) y estrella (*Eleusine indica*) (Merkl et al., 2005).

Tomando en cuenta los datos obtenidos para el suelo testigo ( $0\text{ mg/kg}$ ), la producción de biomasa se incrementó hasta un 73% a las concentraciones más bajas, lo que indica que el crecimiento del pasto fue estimulado a concentraciones residuales de hidrocarburo ( $<4000\text{ mg/kg}$ ) (Rivera-Cruz y Trujillo-Narcía, 2004; Rivera-Cruz et al., 2005) (Tabla 3). En cambio, en los tratamientos a concentraciones por encima de  $7000\text{ ppm}$ , se presentó una reducción sustancial ( $-56\%$  respecto al testigo). Debido a lo anterior, es posible que el hidrocarburo cause compactación del suelo impidiendo la penetración y desarrollo de las raíces, reduciendo la capacidad del pasto para obtener humedad y nutrientes del suelo (Adams et al., 2008a; Nawaz y Bourrié, 2012).

La función matemática obtenida de la curva de dosis-respuesta se empleó para calcular la concentración de hidrocarburo y capacidad de campo que aun permiten el 90% de rendimiento de pastura. En la Tabla 4 se muestran los resultados de las estimaciones realizadas. La concentración de hidrocarburo varió entre  $1739\text{-}3344\text{ mg/kg}$  con un promedio de  $2626\text{ mg/kg}$ . La capacidad de campo requerida para cubrir esta demanda osciló entre  $34,92$  y  $38,08$  por ciento de humedad (%H). Por otra parte, también se observó que para el corte 5 se obtuvo la menor producción inicial de pasto debido a la temporada de sequía, y para el cual se reporta la concentración más baja de HTP que inhibe el 10% de producción de biomasa.

**Relación de la biomasa respecto a la concentración de hidrocarburos, capacidad de campo y temperatura.** La temperatura y capacidad de campo del suelo contaminado fueron determinadas al inicio del experimento con la finalidad de saber si el efecto del petróleo extrapesado-meteorizado sobre estas variables afectaba o no en el crecimiento del pasto. Los resultados obtenidos mostraron que los efectos en la producción de biomasa fueron multifactoriales (HTP+CC+T), siendo un factor determinante la concentración de hidrocarburo (Tabla 3).

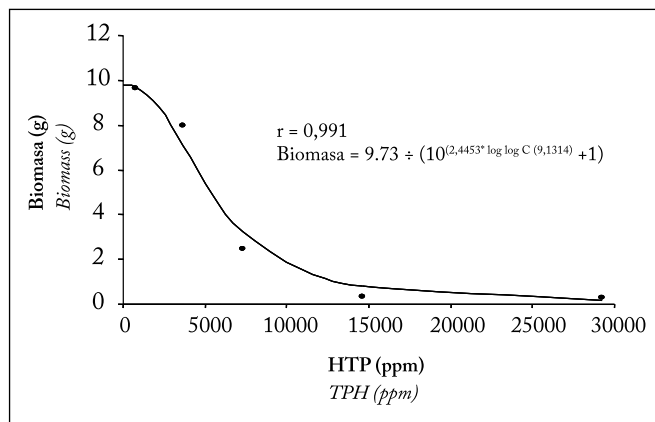


Fig. 1. Curva dosis-respuesta en el crecimiento del pasto, del primer corte.

Fig. 1. Dose-response curve for pasture growth, first sampling.

**Tabla 4.** Concentración de hidrocarburos y capacidad de campo que corresponden a una producción de biomasa de 90% según la relación de dosis-respuesta.

**Table 4.** Hydrocarbon concentration and field capacity corresponding to 90% of biomass production according to the dose-response relationship.

Corte	Periodo	Temporada	Productividad Inicial (g)	Hidrocarburos 90%	Capacidad de Campo 90%
1	Oct-04	De lluvia ( <i>Rainy</i> )	2,04	2832	35,01
2	Dic-04	De lluvia ( <i>Rainy</i> )	1,25	2213	35,42
3	Feb-05	De Nortes ( <i>Northerns</i> )	1,17	2626	34,95
4	Abr-05	Norte/Sequía ( <i>Northerns/Dry</i> )	1,13	3344	38,09
5	Jun-05	Sequía ( <i>Dry</i> )	0,94	1739	35,17
6	Ago-05	De lluvia ( <i>Rainy</i> )	3,85	2998	34,92
				$\bar{X}=2626$	$\bar{X}=35,6$
				$\alpha = 575$	$\alpha = 1,24$

Los tratamientos con bajas concentraciones de hidrocarburo (<4000 mg/kg) presentaron reducciones e incrementos (respecto al suelo testigo) en la capacidad de campo y temperatura, respectivamente. Sin embargo, la biomasa incrementó como resultado de la estimulación por el hidrocarburo. No es hasta concentraciones mayores a 7000 ppm que se intensifican los efectos sobre la CC y Temperatura, y por consecuencia se presentan reducciones significativas en el rendimiento del pasto. Esto refleja los efectos que tienen los hidrocarburos en la disponibilidad de agua y nutrimentos (relación suelo - agua - planta). Es importante señalar que los efectos a la capacidad de campo y temperatura fueron causados por el hidrocarburo, los que a su vez conllevan efectos sobre la producción de biomasa.

**Relación producción primaria y el porcentaje de reducción de los HTP.** Se tomaron los datos de la producción primaria anual de un bloque representativo (bloque 2) para contrastarlos con respecto al porcentaje de reducción de HTP. Se encontró una correlación positiva ( $r=0,996$ ) entre la producción primaria anual del pasto y el porcentaje de reducción en la concentración del petróleo extrapesado-meteorizado (Tabla 3). En la Figura 2 se observa que, conforme aumenta el porcentaje de reducción de hidrocarburos, se incrementa la producción primaria anual; la máxima producción en la muestra estimulada (18,34 g/año) se obtuvo para la mayor reducción de hidrocarburos (77%). Esta alta degradación de hidrocarburos se podría atribuir al crecimiento del pasto (Cunningham et al., 1996), lo cual estimula la actividad microbiana en la rizosfera (Liste y Prutz, 2006; Unterbrunner et al., 2007; Gaskin et al., 2008). Por lo tanto, la biodegradación de HTP puede resultar en mejores condiciones (CC, temperatura, entre otras) para el crecimiento del pasto (Ferro et al., 1994).

Otro factor que pudo influir en la reducción de hidrocarburos es la estimulación de la actividad microbiana por la adición

del fertilizante, facilitando el uso de carbono de los HTP como sustrato para el crecimiento de los microorganismos (Pardo et al., 2004; Unterbrunner et al., 2007). Por otra parte, la adición de fertilizantes reduce la competencia no sólo entre las plantas sino también entre los microorganismos por la limitación de nutrientes que existe en los suelos contaminados (Hernández y Mager, 2003).

También es de esperarse que el mismo crecimiento del pasto modifique el ambiente (zona rizosférica) del suelo contaminado, incrementando la cantidad de materia orgánica, la aireación y la capacidad de retención de agua debido a la producción de sustancias húmicas. Todo esto estimula la biodegradación del petróleo extrapesado-meteorizado por los microorganismos en un ciclo de retroalimentación positiva (Glick, 2003; Amora-Lazcano et al., 2010; Hong et al., 2011). Esta relación sinérgica (planta - microorganismo) en la rizosfera desempeña un papel fundamental en la degradación de HTP, ya que incrementa la germinación y producción de biomasa del pasto (Greenberg et al., 2007) (Fig. 3). Es por eso que en este trabajo se presentó una relación muy estrecha entre la productividad primaria del pasto y la reducción en la concentración de hidrocarburos.

La toxicidad del petróleo extrapesado-meteorizado en este suelo en particular no resultó ser un factor limitante en el desarrollo de la planta. Sin embargo, los cambios originados en las propiedades físicas tuvieron mayor impacto en el desarrollo de la planta, incluso más que la toxicidad de éstos.

La capacidad de campo fue directamente afectada por la concentración de HTP reduciéndose cuando la concentración aumentó ( $r=0,996$ ). La productividad del pasto se redujo drásticamente (-56% respecto al testigo) a una capacidad de campo menor al 35% de humedad. De igual forma, se observó una correlación lineal positiva entre la temperatura y el contenido de hidrocarburo ( $r=0,966$ ) reduciendo sustancialmente el rendimiento del pasto a 52 °C.

Es posible que la reducción en el crecimiento del pasto sea multifactorial (HTP>T>CC>Biomasa) y cambiante durante el desarrollo de la vegetación. Sin embargo, se observó que la biomasa está directamente relacionada con la

concentración de hidrocarburo, siendo mayor la producción a concentraciones residuales (<4000 mg/kg) y presentando reducciones en la producción cuando la concentración es mayor a 7000 ppm.

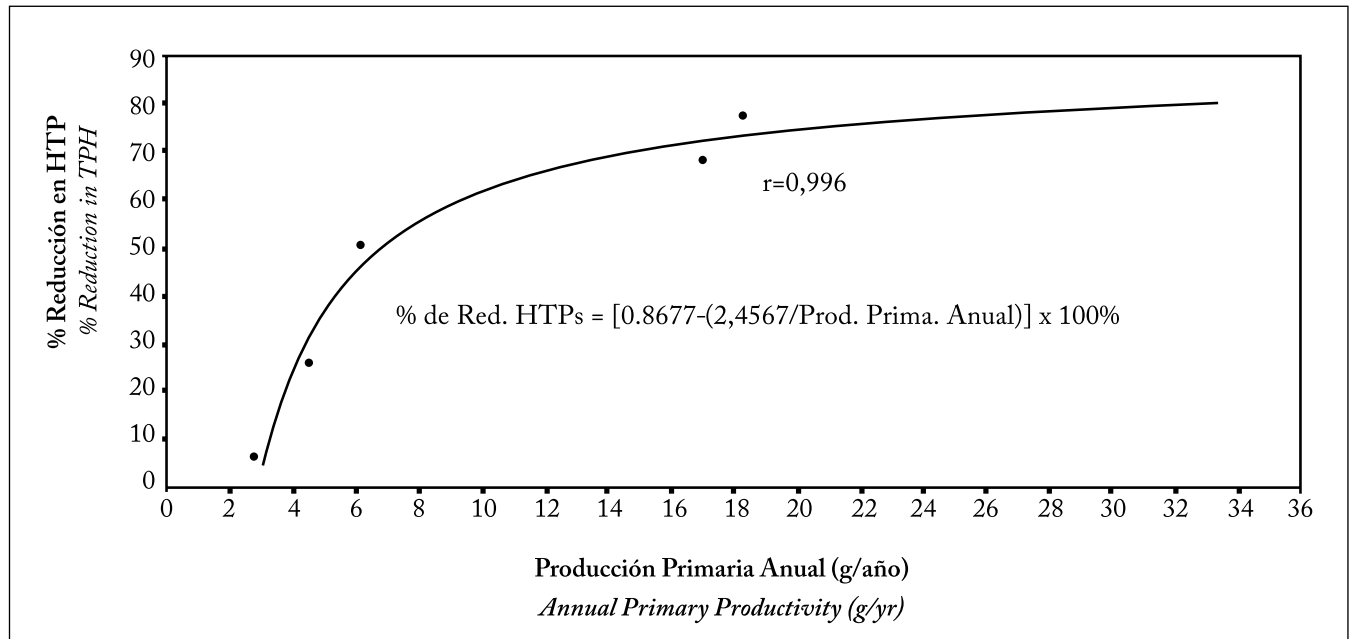


Fig. 2. Producción primaria anual respecto al porcentaje de reducción de los HTP.  
 Fig. 2. Annual primary productivity with respect to the reduction in TPH.

Nota: la producción primaria fue calculada en un área de 0,16 m<sup>2</sup>.  
 Note: primary productivity was calculated for an area of 0.16 m<sup>2</sup>.

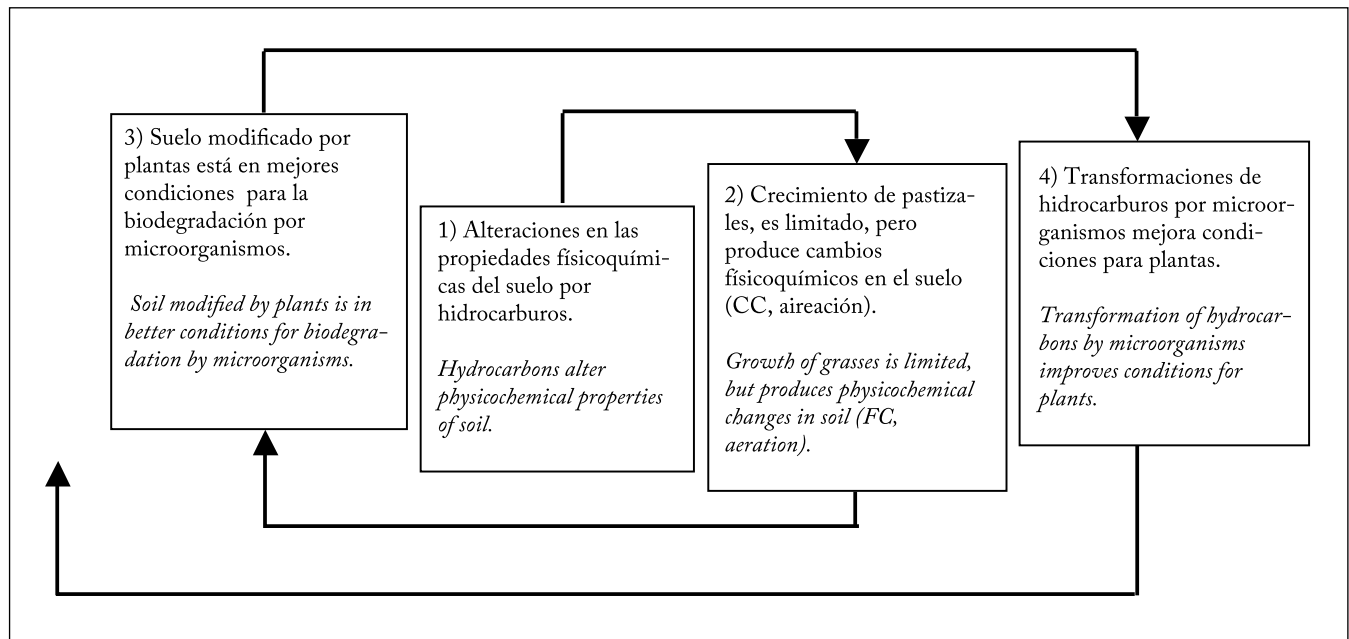


Fig. 3. Sinergismo planta - microorganismo para la restauración del suelo.  
 Fig. 3. Plant - microorganism synergism for soil restoration.



Sin embargo, a largo plazo el pasto parece ser un agente importante en la biodegradación de hidrocarburos meteorizados. Existe una relación muy estrecha entre la productividad primaria y la reducción de la concentración de hidrocarburos, ya que el crecimiento del pasto modifica el ambiente (la rizosfera) por la adición de desechos vegetales, estimulando la biodegradación por los microorganismos, debido a las condiciones favorables que se presentan (presencia de materia orgánica, aireación del suelo). Por otra parte, también mejora la capacidad de campo debido a la producción de sustancias húmicas.

## REFERENCIAS

- Adams, R.H., V.I. Domínguez-Rodríguez y L. García-Hernández (1999). Potencial de la biorremediación de suelo y agua impactados por petróleo en el trópico mexicano. *Terra Latinomericana* 17: 159-174.
- Adams Schroeder, R.H., V.I. Domínguez Rodríguez y L. Vinalay Carrillo (2002). Evaluation of microbial respiration and ecotoxicity in contaminated soils representative of the petroleum producing region of southeastern Mexico. *Terra Latinomericana* 20: 253-265.
- Adams, J., C. Riediger, M. Fowler y S. Larter (2005). Thermal controls on biodegradation around the Peace River tar sands: Paleopasteurization to the west. *Journal of Geochemical Exploration* 89: 1-4.
- Adams, R.H., A.L. Ovando-Álvarez, E. Escalante-Espinosa y M. Gutiérrez-Rojas (2006). Dose-response relationship of organisms in soil with heavily weathered hydrocarbons and changes in fertility parameters. 13<sup>th</sup> International Environmental Petroleum Conference. 16-20 October. San Antonio, Texas: International Environmental Petroleum Consortium.
- Adams, R.H., J. Zavala-Cruz y F. Morales-García (2008a). Concentración residual de hidrocarburos en suelo del trópico II: Afectación a la fertilidad y su recuperación. *Interciencia* 33: 483-489.
- Adams, R.H., F.J. Guzmán-Osorio y J. Zavala-Cruz (2008b). Water repellency in oil contaminated sandy and clayey soils. *International Journal of Environmental Science and Technology* 5: 445-454.
- Adams, R.H., D. Olán-Castro, F.J. Guzmán-Osorio y I.J. Díaz-Ramírez (2009). Relationship between geomorphology and contamination with weathered hydrocarbons in an old river levee/marsh association. *International Journal of Environmental Science and Technology* 6: 527-538.
- American Society for Testing Materials (ASTM) D287 - 92. (2006). Standard Test Method for API Gravity of Crude Petroleum and Petroleum Products (Hydrometer Method). American Society for Testing and Materials. West Conshohocken, Pennsylvania. 3 p.
- Amora-Lazcano, E., L.A. Guerrero-Zúñiga, A. Rodríguez-Tovar, A. Rodríguez-Dorantes y M.S. Vasquez-Murrieta (2010). Rhizospheric plant-microbe interactions that enhance the remediation of contaminated soils. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. Volume 1, pp. 251-256.
- Corgié, S.C., E.J. Joner y C. Leyval (2003). Rhizospheric degradation of phenanthrene is a function of proximity to roots. *Plant and Soil* 257: 143-150.
- Cornelio G.Y.J. (2001). Evaluación preliminar de toxicidad por plaguicidas (Mancozeb) en agua y sedimentos en la zona platánica del río Teapa, Tabasco, México. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Ambiental. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 71 p.
- Cunningham, S.D., T.A. Anderson, P.A. Schwab y F.C. Hsu (1996). Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Advances in Agronomy* 56: 55-114.
- Das, N. y P. Chandran (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. *Journal of Biotechnology Research International* 2011: 1-13.
- Domínguez-Rodríguez, V.I. (2008). Estudio de Tratamiento de Recortes de Perforación Mediante un Sistema de Desorción Térmica de Baja Temperatura. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco. 74 p.
- Dorn, P.B. y J.P. Salanitro (2000). Temporal ecological assessment of oil contaminated soils before and after bioremediation. *Chemosphere* 40: 419-426.
- Dusseault, M.B. (2001). Comparing Venezuelan and Canadian heavy oil and tar sands, Paper No. 2001-061. Canadian International Petroleum Conference. June 12-14, 2001.
- Environmental Protection Agency (EPA) (1986a). Method 418.1 mod. Petroleum hydrocarbon, total recoverable. Spectrophotometric infrared. United States Environmental Protection Agency. Washington, DC: Government Printing Office. 8 p.
- Escalante, E.E. (2000). Estudio de ecotoxicidad de un suelo contaminado con hidrocarburos. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. 50-51 p.
- FAO (2006). World Reference Base for Soil Resources. A framework for international classification, correlation and communication. Reports No. 103. IUSS, FAO, ISRIC. Rome, Italy. 145 p.
- Fernández, C., M. Silva, J.C. Pereira, A. Mallia, M.J. Llobregat y V. Altomare (2006). Biodegradabilidad de las fracciones resinas y asfaltenos por Pseudomonas en suelo impactado con crudo mediano. *Revista Ingeniería U. C.* 13: 7-13.
- Fernández, L., A.L.C. Rojas, C.N.G. Roldán, I.T.G. Ramírez, M.M.E. Zegarra, H.H.G. Uribe, A.R. Reyes, H.R. Flores y O.J.M. Arce (2006). Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados. IMP-SEMARNAT, México, D.F. 184 p.
- Fernández, C., M. Llobregat, B. Jimenez, V. Altomare y H. Labrador (2008). Biodegradación de asfalto y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela* 23: 7-15.
- Ferro, A., R. Sims y B. Bugbee (1994). Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. *Journal of Environmental Quality* 23: 272-279.
- Garbi, M., M.C. Grimaldi y S. Martínez (2001). Efecto de plásticos de color sobre la temperatura del suelo durante el periodo frío en La Plata (Buenos Aires, Argentina). *Revista Argentina de Agrometeorología* 1: 87-90.
- Gaskin, S., K. Soole y R. Bentham (2008). Screening of Australian native grasses for rhizoremediation of aliphatic hydrocarbon-contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation* 10: 378-389.
- Glick, B.R. (2003). Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnology Advances* 21: 383-393.

- Greenberg, B.M., X.D. Huang, K. Gerhardt, B.R. Glick, J. Gurska, W. Wang, M. Lampi, A. Khalid, D. Isherwood, P. Chang, H. Wang, S.S. Wu, X.M. Yu, D.G. Dixon y P. Gerwing (2007). Field and laboratory tests of a multi-process phytoremediation system for decontamination of petroleum and salt impacted soils. En: Proceedings of the Ninth International *In Situ* and *On-Site* Remediation Symposium. 2007. Batelle Press. 8 p. (electronic publication).
- Gustafson, J.B., J.G. Tell y D. Orem (1997). Selection of representative TPH fractions based on fate and transport considerations. Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Series-Volume 3, Amherst Scientific Publishers.
- Hernández, I. y D. Mager (2003). Uso de *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha* para fitorremediar suelos contaminados con un crudo de petróleo liviano. *Bioagro* 15: 144-155.
- Hinkle, A., E.J. Shin, M.W. Liberatore, A.M. Herring y M. Batzle (2008). Correlating the chemical and physical properties of a set of heavy oils from around the world. *Fuel* 87: 3065-3070.
- Hong, S.H., H.W. Ryu, J. Kim & K.S. Cho (2011). Rhizoremediation of diesel-contaminated soil using the plant growth-promoting rhizobacterium *Gordonia* sp. S2RP-17. *Journal of Biodegradation* 22: 593-601.
- Infante, C., C. Ortega, F. Morales, U. Ehrmann, I. Hernández-Valencia y R. Pérez (2010). Efecto del potasio en la biorremediación de un suelo contaminado con un crudo liviano. *Bioagro* 22: 145-152.
- Kaimi, E., T. Mukaidani y M. Tamaki (2007). Effect of rhizodegradation in diesel-contaminated soil under different soil conditions. *Plant Production Science Journal* 10: 105-111.
- Lamus, C., A. Guzman, B. Murcia, R. Cabanzo y E. Mejía-Ospino (2011). Uso de análisis multivariado en la determinación SARA de crudos por espectroscopia NIR. *Revista Colombiana de Física* 43: 637-642.
- Leelamanie, D.A.L., J. Karube y A. Yoshida (2008). Characterizing water repellency indices: Contact angle and water drop penetration time of hydrophobized sand. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 54: 179-187.
- Liste, H-H. y I. Prutz (2006). Plant performance, dioxygenase expressing rhizosphere bacteria, and biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soil. *Chemosphere* 62: 1411-1420.
- Mayo-López, T.M., R.H. Adams, V.I. Domínguez-Rodríguez y F.J. Guzmán-Osorio (2010). Organic amendment optimization for treatment of hydrocarbon contaminated soil using the chemical-biological stabilization process. *African Journal of Biotechnology* 9: 7079-7085.
- Merkel, N., R. Schultze y C. Infante (2005). Assessment of tropical grasses and legumes for phytoremediation of petroleum-contaminated soils. *Journal of Water, Air and Soil Pollution* 165: 195-209.
- Miranda-Martínez, M.R., J. Delgadillo-Martínez, A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (2007). Degradación de fenantreno por microorganismos de la rizosfera del pasto alemán. *Terra Latinoamericana* 25: 25-33.
- Mommer, B. (2004). La valorización del crudo extrapesado de la faja petrolífera del Orinoco. *Revista Venezolana de Economía y Ciencias Sociales* 10: 33-50.
- Morales-Bautista C.M., Adams R.H., Guzmán-Osorio F. y D. Marín-García (2013). Dilution-extrapolation hydrometer method for easy determination of API gravity of heavily weathered hydrocarbons in petroleum contaminated soil. *Energy and Environmental Research* 3: 115-124.
- Nawaz, M.F. y G. Bourrié (2012). Soil compaction impact and modelling. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32: 1-19.
- Palma-López, D.J., D.J. Cisneros, C. Moreno y J.A. Rincón-Ramírez (2006). Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco. 3ª. Ed. ISPROTAB FUNDACIÓN PRODUCE TABASCO-COLEGIO DE POSTGRADUADOS. Villahermosa, Tabasco, México. 196 p.
- Pardo, J.L., M.C. Perdomo y J.L. Benavides (2004). Efecto de la adición de fertilizantes inorgánicos compuestos en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con petróleo. *Nova* 2: 40-49.
- Peel, M.C., B.L. Finlayson y T.A. McMahon (2007). Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences* 11: 1633-1644.
- Peters, M., L.H. Franco, A. Schmidt y B. Hincapié (2003) Especies forrajeras multipropósito: Opciones para productores de Centroamérica. CIAT Publicación No. 333. Centro de Investigación de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.
- Pineda-Flores, G., G. Boll y A.N. Mesta (2002). Biodegradación de asfaltenos por un consorcio microbiano aislado de petróleo crudo "Maya". *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 18: 67-73.
- Porta, C.J., R.M. López-Acevedo y I.B.C. Roquero (2003). Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente. 2ª ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 849 p.
- Rivera, C.M.C. y N.D.M. Trujillo (2004). Estudio de toxicidad vegetal en suelo con petróleos nuevo e intemperizado. *Interciencia* 29: 369-376.
- Rivera, C.M.C., N.D.M. Trujillo y C.E. Maldonado (2005). Evaluación toxicológica de suelos contaminados con petróleo nuevo e intemperizado mediante ensayos con leguminosas. *Interciencia* 30: 326-331.
- Roy, J.L. y W.B. McGill (1998). Characterization of disaggregated nonwetttable surface soils found at old spill site. *Canadian Journal Soil Science* 78: 331-344.
- Roy, J.L. y W.B. McGill (1999). Investigation into mechanisms leading to the development, spread and persistence of soil water repellency following contamination by crude oil. *Canadian Journal Soil Science* 80: 595-606.
- Russell, E.J. y A. Wild (1992). Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. 3ª ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 1045 p.
- Sánchez-García, P., V. Volke, L. Fernández-Linares, R. Rodríguez, M.C. Rivera-Cruz y R. Ferrera-Cerrato (2004). Descontaminación de suelos con petróleo crudo mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán [*Echinichloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc.] *Agrociencia* 38: 1-12.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) (1996). Norma Mexicana NMX-AA-112-1995-SCFI, para el análisis de agua y sedimentos -evaluación de toxicidad aguda con *Photobacterium phosphoreum*- método de prueba. Publicada en D.O.F. el 12/04/1996. 18 p.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) (2005). Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SS-2003, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial de la Federación, 29/03/2005. México, DF, México. 20 p.

- Toledo, D., L.T. Maranhão, A.F. Locateli, M.A. da Silva y L.G. Lacerda (2009). Petroleum hydrocarbons rhizodegradation by *Sebastiania commersoniana* (Baill.) L.B. SM. & Downs. *Journal of Water, Air and Soil Pollution* 9: 293-302.
- Trindade, P.V.O., L.G. Sobral, A.C.L. Rizzo, S.G.F. Leite y A.U. Soriano (2004). Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soil from Brazil: a comparison study. *Chemosphere* 58: 515-522.
- Trofimov, S.Y. y M.S. Rozanova (2003). Transformation of soil properties under the impact of oil pollution. *Eurasian Soil Science* 36: 82-87.
- Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) (2010). Caracterización de celdas de hidrocarburo y sedimentos contaminados de la Presa Agua de Mina, Unidad Minera Texistepec, Veracruz. Pemex Gas Petroquímica Básica. Reporte Final. No. publicado; 2010. p. 1.
- Unterbrunner, R., G. Wieshammer, U. Hollender, B. Felderer, M. Wieshammer, Z.M. Puschenreiter y W. Wenzel (2007). Plant and fertilizer effects on rhizodegradation of crude oil in two soils with different nutrient status. *Plant and Soil* 300: 117-126.
- Wang, Z., M. Fingas y K. Li (1994). Fractionation of a light crude oil and identification and quantification of aliphatic, aromatic and biomarker compounds by GC-FID and GC-MS, Part I. *Journal of Chromatographic Science* 32: 361-365.
- West, R.C., N.P. Psuty y B.G. Thom (1985). Las tierras bajas de Tabasco en el Sureste de México. Segunda edición. Gobierno del estado de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México (trad. del original en Inglés).
- Zavala-Cruz, J., F. Gavi-Reyes, R.H. Adams, R. Ferrera-Cerrato, D.J. Palma-López, H. Vaquera-Huerta y J.M. Domínguez-Ezquivel (2005). Derrames de Petróleo en Suelos y Adaptación de Pastos Tropicales en el Activo Cinco Presidentes, Tabasco. *Terra Latinoamericana* 23: 293-302.