

USO DE FERTILIZANTES ORGÁNICOS EN LA ENMENDACIÓN DE UN FLUVISOL RESTAURADO TRAS LA CONTAMINACIÓN CON PETRÓLEO

Antonio Trujillo-Narcía, María del Carmen Rivera-Cruz, Luz del Carmen Lagunes-Espinoza, David Jesús Palma-López, Saúl Sánchez-Soto y Gustavo Ramírez-Valverde

RESUMEN

Durante dos bioensayos se comparó la efectividad de la cachaza (CA) y el estiércol de pollo (EP) en la enmendación de tres suelos restaurados (SR1, SR2 y SR3) tras la contaminación por fuga de petróleo crudo. El efecto de ambos fertilizantes orgánicos (FO) se midió en la respuesta de la planta de rábano, las propiedades físicas y químicas del suelo, el carbono de la biomasa microbiana y las densidades de rizobacterias fijadoras de N y solubilizadoras de fosfatos. La altura de la planta, biomasa del bulbo y acumulación de N y P en suelo y en follaje aumentaron (Tukey; $p \leq 0,05$) con la adición de CA y de EP en el suelo testigo (ST) y en SR3. Ocurrió interacción en tipo de suelo y en suelo \times FO, pero no en dosis. El petróleo en los tres

SR inhibió la adsorción de N en suelo (-0,758**) y también la absorción en planta (-0,868**), afectó el C orgánico del suelo (COS; -0,884**), el C de la biomasa microbiana (-0,770**), la biomasa seca foliar (BSF; -0,869**) y la del bulbo (-0,859**). Igualmente promovió la densidad de bacterias fijadoras de N (BFN; 0,251*) e inhibió la población de bacterias solubilizadoras de fosfatos (BSP; -0,297*). Los dos FO tienen potencial para mejorar suelos restaurados de la contaminación. Es necesaria la realización de nuevos estudios con otras dosis de FO, para optimizar la enmendación de las características de los suelos restaurados tras la contaminación con petróleo.

Introducción

La industria petrolera genera emergencias ambientales que causan contaminación del suelo y también residuos peligrosos (Ferreira *et al.*, 2013; PEMEX, 2013). La restauración de los suelos, a través de diferentes técnicas de descontaminación, varía de acuerdo a las condiciones ambientales y al patrón de dispersión de los hidrocarburos dentro del suelo. El proceso de remoción y recuperación del contaminante es predominantemente físico, y altera (Cébron *et al.*, 2011) las propiedades físicas y químicas originales del suelo. Los suelos descontaminados (Trujillo-Narcía *et al.*, 2012) no recuperan el nivel de fertilidad original ni las funciones ecológicas de re-

gulación, almacenamiento, de provisión y de hábitat para la edafofauna.

Los suelos restaurados requieren la mejora de los atributos físicos, químicos y biológicos. Reportes experimentales destacan que la fertilización orgánica (FO) del suelo con residuos animales, vegetales y compostas es efectiva para el mejoramiento de la fertilidad. Los residuos animales evaluados agrupan el estiércol de pollo, gallinaza, estiércol de ganado bovino y porcino (Lai *et al.*, 2008; Siebert *et al.*, 2011). Los residuos vegetales utilizados para la enmendación del suelo son de banano, cáscara de naranja, cachaza, bagazo de caña de azúcar (Meunchang *et al.*, 2006; Rivera-Cruz *et al.*, 2010), vermicomposta de café

(Ferrera-Cerrato *et al.*, 2007) y composta de tallos leñosos (Gregory y Vickers, 2003).

Los beneficios aportados por los FO en suelos con hidrocarburos incrementan el carbono orgánico del suelo (COS; Hidalgo *et al.*, 2006), y mejoran la porosidad, la aireación, la tasa de infiltración de agua, la biodisponibilidad, solubilidad, difusión y la proporción de reacción de contaminantes hidrofóbicos (Northcott y Jones, 2001; Antizar-Ladislao *et al.*, 2004; Sabate *et al.*, 2006). También los FO adicionados en suelos contaminados con hidrocarburos promueven el crecimiento de gramíneas (Adams, 2004), de la leguminosa *Phaseolus coccineus* (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2007), la crucífera *Raphanus sativus* (Aré-

valo *et al.*, 2010) y de la conífera *Podocarpus polystachyus* (Dadransia y Agamuthu, 2013).

La especie vegetal utilizada en el presente estudio, *R. sativus*, es de ciclo corto, tiene su raíz primaria en los primeros 0,5m de profundidad del suelo, responde a los FO (Reinaldo y Cisne, 2011) y es indicadora de sustancias tóxicas en el suelo (OECD, 2006). Posee rizosfera con potencial para el establecimiento de bacterias fijadoras de N de vida libre (BFN) y solubilizadoras de fosfatos (BSP), las cuales son estimuladas por el COS derivado de los FO y de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP). La materia orgánica del suelo es una fuente de C y N para el establecimiento, multiplicación y conservación de la diversidad de hongos

PALABRAS CLAVE / Biomasa Microbiana / Cachaza / Contaminación / Estiércol de Pollo / Petróleo / Rábano /

Recibido: 14/05/2013. Modificado: 31/03/2014. Aceptado: 03/04/2014.

Antonio Trujillo-Narcía. Maestro en Ciencias en Edafología y Estudiante de Doctorado en Ciencias, Colegio de Postgraduados (COLPOS), México. Profesor Investigador, Universidad Popular de la Chontalpa (UPCh), México.

María del Carmen Rivera-Cruz. Doctora en Ciencias en Edafología, COLPOS, Montecillo, Mé-

xico. Profesora Investigadora COLPOS, México. Dirección: Periférico Carlos A. Molina s/n, km. 3.5, H. Cárdenas, Tabasco, México. CP 86570. e-mail: mariari @colpos.mx

Luz del Carmen Lagunes-Espinoza. Doctora en Ciencias en Biología y Agronomía, École Nationale Supérieure d'Agronomie de Rennes, Francia. Pro-

fesora Investigadora, COLPOS, México.

David Jesús Palma-López. Doctor en Ciencias Agronómicas en Pedología, École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires - Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, Francia. Profesor Investigador, COLPOS, México.

Saúl Sánchez-Soto. Doctor en Ciencias en Entomología, Universidade de São Paulo, Brasil. Profesor Investigador, COLPOS, México.

Gustavo Ramírez-Valverde. Doctor en Ciencias en Estadística, Tulane University, Nueva Orleans, EEUU. Profesor Investigador, COLPOS, México.

USE OF ORGANIC FERTILIZERS IN REMEDIATION OF A FLUVISOL RESTORED AFTER OIL CONTAMINATION

Antonio Trujillo-Narcía, María del Carmen Rivera-Cruz, Luz del Carmen Lagues-Espinoza, David Jesús Palma-López, Saúl Sánchez-Soto and Gustavo Ramírez-Valverde

SUMMARY

Two bioassays compared the effectiveness of sugarcane residue (CA) and chicken manure (EP) in three restored soils emendation (SR1, SR2 and SR3) after contamination by crude oil leakage. The effect of both organic fertilizers (FO) was measured in the response of radish plants, the physical and chemical properties of the soil, the microbial biomass carbon, and the densities of N-fixing and phosphate solubilizing rhizobacteria. Plant height, bulb biomass and accumulation of N and P in soil and foliage increased (Tukey, $p \leq 0.05$) with the addition of CA and EP in the control soil (ST) and SR3. Interaction occurred in soil type and

soil \times biofertilizer but not dose. Oil in the three SR inhibited the adsorption of N in soil (-0.758**) and plant uptake (-0.868**), also affected the soil organic carbon (COS; -0.884**), carbon microbial biomass (-0.770**), leaf dry biomass (BSF; -0.869**) and that of the bulb (-0.859**). It also promoted microbial density (0.251*), N-fixing rhizobacteria (BFN) and inhibited (-0.297*) the density of the phosphate solubilizers (BSP). Both FO have the potential to improve restored soil pollution. Further studies are necessary with other doses of FO so as to optimize the emendation of soils restored after oil pollution.

USO DE FERTILIZANTES ORGÂNICOS NA CORREÇÃO DE UM FLUVISSOLO RESTAURADO DEPOIS DA CONTAMINAÇÃO COM PETRÓLEO

Antonio Trujillo-Narcía, María del Carmen Rivera-Cruz, Luz del Carmen Lagues-Espinoza, David Jesús Palma-López, Saúl Sánchez-Soto e Gustavo Ramírez-Valverde

RESUMO

Durante dois bi ensaios se comparou a efetividade da cachaza (CA) e o esterco de frango (EP) na correção de três solos restaurados (SR1, SR2 e SR3) depois da contaminação por fuga de petróleo cru. O efeito de ambos fertilizantes orgânicos (FO) se mediu na resposta da planta de rabanete, as propriedades físicas e químicas do solo, o carbono da biomassa microbiana e as densidades de rizo bactérias fixadoras de N e solubilizadoras de fosfatos. A altura da planta, biomassa do bulbo e acumulação de N e P em solo e em folhagem aumentaram (Tukey; $p \leq 0,05$) com a adição de CA e de EP no solo testemunho (ST) e em SR3. Ocorreu interação em tipo de solo e em solo FO, mas

não em doses. O petróleo nos três SR inibiu a adsorção de N em solo (-0,758**) e também a absorção em planta (-0,868**), afetou o C orgânico do solo (COS; -0,884**), o C da biomassa microbiana (-0,770**), a biomassa seca foliar (BSF; -0,869**) e a do bulbo (-0,859**). Igualmente promoveu a densidade de bactérias fixadoras de N (BFN; 0,251*) e inibiu a população de bactérias solubilizadoras de fosfatos (BSP; -0,297*). Os dois FO têm potencial para melhorar solos restaurados da contaminação. É necessária a realização de novos estudos com outras doses de FO, para aperfeiçoar a correção das características dos solos restaurados depois da contaminação com petróleo.

de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal o PGPR por sus siglas en inglés; Zeng *et al.*, 2007), reportadas por Wu *et al.* (2005), Rivera-Cruz (2011) y por Vázquez-Luna *et al.* (2011) en rizosferas de plantas tolerantes a hidrocarburos.

Por las características de *R. sativus* como planta bioindicadora o centinela (OECD, 2006) y los beneficios de los FO para el suelo y la planta, el objetivo del trabajo fue evaluar en campo, durante dos ciclos agrícolas, el efecto de la cachaza y el estiércol de pollo en las características físicas y químicas de suelos restaurados tras derrame de petróleo crudo, así como en la actividad microbiana, en las bacterias promotoras del crecimiento vegetal y también

en el desarrollo de la planta de rábano.

Materiales y Métodos

Sitio experimental, emergencia ambiental y tecnología de restauración

El sitio experimental se localiza en la Ranchería Los Cedros, municipio de Cunduacán, Tabasco, ubicado al sureste de México, cuyas coordenadas UTM son 493951 y 1996493. El clima es tropical húmedo con lluvias en verano (Amf), la precipitación pluvial promedio anual es 2200mm, y 26°C la temperatura media anual (INEGI, 2001). Existen tres épocas climáticas en el año (West *et al.*, 1985): lluvias (junio a octubre), nortes (noviembre-febre-

ro) y sequía o sures (marzo-abril). El suelo fue identificado como Fluvisol éutrico con vegetación herbácea y cultivo de maíz. Debajo del suelo, a 1m de profundidad se encuentran siete ductos que conducen petróleo crudo, nitrógeno o gas natural. El boletín de prensa N° 125 de PEMEX Región Villahermosa, reportó que el 26/06/2006 ocurrió una emergencia ambiental en una superficie de 1,5ha, contaminada con petróleo crudo procedente de la fuga de 50 barriles de un oleoducto de 24 pulgadas de diámetro. Este suelo fue restaurado con tecnología fisicoquímica durante 2007 (PEMEX, 2011). La tecnología de restauración física y química consistió de seis etapas secuenciales (Trujillo-Narcía *et al.*,

2012): 1) Recuperación por gravedad del petróleo liberado del suelo y captado en una presa de lixiviación. 2) Adición en el suelo de surfactantes diluidos en agua (1:10). 3) Remoción continua, con retroexcavadora mecánica, de los montículos del suelo lavados con la mezcla de agua y surfactante. 4) Recuperación de los lixiviados en una presa. 5) Recuperación del aceite sobrenadante a través de separación por densidades. 6) Por último, adición de peróxido de hidrógeno. El suelo tratado fue transportado de regreso al sitio en camiones de volteo y en góndolas.

Características de los suelos

El suelo del área restaurado (0,87ha) y un área aledaña de

suelo no contaminado de 0,337ha, denominado suelo testigo (ST) fueron caracterizados en su textura (Bouyoucos, 1962), densidad aparente (Dap; $g \cdot cm^{-3}$) con la técnica de la parafina (Blake y Hartge, 1986), la tasa de infiltración básica (Ib; $cm \cdot h^{-1}$) con la técnica de los cilindros infiltrómetros (Bouwer, 1986). Los HTP se extrajeron según el método EPA 418.1 (EPA, 1986) y cuantificación gravimétrica (DOF, 2006). El COS se determinó por combustión seca de la materia orgánica (Walkley y Black, 1934), el N total (Nt) por el método micro-Kjeldahl con digestión con H_2SO_4 (Page *et al.*, 1982) y el P disponible Olsen (Pdisp) se determinó con solución extraíble de $NaHCO_3$ utilizando espectrofotómetro a 882nm (Olsen y Sommers, 1982). Según estas propiedades el ST es migajón arcilloso, los contenidos de COS, Nt y Pdisp indican mayor fertilidad que el suelo restaurado y no existe contaminación con HTP (Tabla I). En el área del suelo restaurado (SR) se identificaron tres tipos según la cantidad de HTP: SR1, SR2 y SR3. La textura de los tres SR es arcillosa, tienen mayor Dap que el ST, el pH es alcalino, la Ib disminuyó y la fertilidad es pobre, además los tres SR están contaminados con HTP (Tabla I).

Análisis químicos de los fertilizantes orgánicos

Los fertilizantes orgánicos (FO) utilizados fueron residuos de la molienda de caña de azúcar, denominado cachaza (CA) y el estiércol de pollo (EP). La CA y EP fueron molidos con mazo de madera y tamizados en malla de 0,5cm de abertura, fueron composteados durante 12 meses y permanecieron luego en bolsas de plástico. Las propiedades químicas de la CA son pH en agua 8,0; carbono orgánico 9,13%; Nt 1,2%; Pdisp 850mg·kg⁻¹; y Kint 0,35cmol⁺·kg⁻¹. Las propiedades del EP son pH en agua 7,4; carbono orgánico 17,94%; Nt 2,9%; Pdisp 1370mg·kg⁻¹; y Kint 2,01cmol⁺·kg⁻¹.

TABLA I
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS SUELOS TESTIGO Y RESTAURADOS AL INICIO DE LOS BIOENSAYOS, 0-15cm DE PROFUNDIDAD

Suelo	Superficie ha	Textura	Dap g·cm ⁻³	Ib cm·h ⁻¹	pH agua	COS	Nt	Pdisp	HTP
						%		mg·kg ⁻¹	
ST	0,337	Migajón arcilloso	1,15	8,33	7,06	4,10	0,20	31,22	916
SR1	0,17	Arcillosa	1,94	0,1	8,22	1,05	0,045	9,6	10156
SR2	0,54	Arcillosa	1,86	0,1	8,36	1,1	0,067	7,28	11012
SR3	0,16	Arcillosa	1,74	0,1	8,14	1,6	0,080	8,76	6940

ST: suelo testigo, SR1: suelo restaurado 1, SR2: suelo restaurado 2, SR3: suelo restaurado 3, Dap: densidad aparente, Ib: tasa de infiltración básica, COS: carbono orgánico del suelo, Nt: nitrógeno total, Pdisp: fósforo disponible, y HTP: hidrocarburos totales del petróleo; n=3.

Diseño experimental

Se establecieron dos bioensayos con planta de *R. sativus* y dosis de FO, uno en época de nortes (dic 2009-ene 2010) y otro en época de sequía (mar-may 2010). La duración de cada bioensayo fue de 35 días. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar y arreglo factorial 4×3 (cuatro tipos de suelos y tres tipos de FO). Se establecieron 12 tratamientos, a saber, T1: ST (sin FO), T2: ST+2%CA, T3: ST+2%EP, T4: SR1 (sin FO), T5: SR1+2%CA, T6: SR1+2%EP, T7: SR2 (sin FO), T8: SR2+2%CA, T9: SR2+2%EP, T10: SR3 (sin FO), T11: SR3+2%CA, y T12: SR3+2%EP, con cuatro repeticiones por tratamiento en cada bioensayo. La unidad experimental fue de 1,5×1,5m (2,25m²) y la parcela útil fue el m² central. La cantidad aplicada de 2% de CA y EP se determinó en función a resultados experimentales en invernadero (Arévalo *et al.*, 2010). La dosis de CA y de EP se calculó considerando el volumen de la parcela experimental (1,5×1,5×0,15m de profundidad; 0,3375m³) y la densidad aparente (Dap) de cada tipo de suelo, las Dap son ST= 1,138; SR1= 1,845; SR2= 1,816; y SR3= 1,706. El volumen utilizado de sustratos por unidad experimental (en ton·ha⁻¹) fueron: ST= 34,1; SR1= 55,3; SR2= 54,4; y SR3= 51,2. Las semillas de *R. sativus* se sembraron cada 10cm en marco real. La humedad del suelo se mantuvo a capacidad de campo (35%) con riegos todos los días. La semilla certificada tuvo 98% de emergencia.

Análisis físico, químico y biológico

Al finalizar cada ciclo experimental se determinaron las variables Dap, Ib, COS, Nt, Pdisp y la cantidad de HTP. Las técnicas utilizadas son mencionadas en el apartado de características de los suelos. En la planta de rábano se midió a los 7, 14, 21, 28 y 35 días la altura de la planta (AP), y al finalizar el ciclo (día 35) se cuantificó la biomasa seca radical (BSR), biomasa seca foliar (BSF), y biomasa seca del bulbo (BSB). Se extrajeron del suelo las plantas colectadas de la parcela útil, se lavó la raíz, se separaron con cuchillo la raíz, el bulbo y el follaje, se introdujeron por separado en bolsas de papel y se secaron en horno a 75°C por 72h. Una parte de la biomasa foliar fresca se lavó con agua destilada, se secó en horno, se molió y se digirió en 3ml de H_2SO_4 concentrado y 1ml de H_2O_2 a 360°C, se determinó el Nt por el método de reacción de Berthelot y el Pdisp con azul de molibdato (Page *et al.*, 1982). El C-biomasa microbiana (C-biomasa; mg/100g) se obtuvo mediante el método de cloroformo fumigación-extracción (Jenkinson y Powlson, 1976). Las bacterias fijadoras de N de vida libre (BFN) se cultivaron en carbón combinado (Rennie, 1981) y las solubilizadoras de fosfatos (BSP) con el medio de cultivo Pikovskaya's (fosfato tricálcico; Rao, 1982). Las densidades de las PGPR en rizósfera se contaron como unidades formadoras de colonias (UFC/g base seca) por el método de dilución seriada con cuenta

viable en caja Petri (Madigan *et al.*, 2009).

Análisis estadístico

Se realizó el ANDEVA (SAS, 2005) de las medias (Tukey; $p \leq 0,05$) de ocho repeticiones por tratamiento y las correlaciones múltiples de las variables físicas (Dap e Ib), químicas (suelo: HTP, COS, Nt, Pdisp; foliar: N y P) y biológicas (microflora: C-bio, densidades de BFN y BSP; de planta: AP, BSR, BSF, BSB; y biomasa seca total: BST).

Resultados y Discusión

Densidad aparente y tasa de infiltración del agua

La adición y mezclado de 2% de CA o de 2% de EP en el suelo superficial (0-15cm de profundidad) en las parcelas experimentales del ST y en los tres SR, no originó modificaciones en la Dap ni en la tasa de la Ib (Tabla II); sin embargo, ocurrieron interacciones en el factor suelo y entre suelo respecto al FO (S×FO; Tabla III). El ST sin FO conservó la menor Dap (1,10g·cm⁻³) y el SR1 la densidad mayor (1,86g·cm⁻³); la comparación indica que existe una diferencia de 69% mayor Dap en el SR1 respecto a la Dap del ST. Se identificó correlación negativa (-0,902**) entre HTP y la Dap (Tabla IV). En cuanto a la velocidad de la entrada del agua en el espacio poroso del suelo, la mayor tasa de Ib fue 8,01cm·h⁻¹ y tuvo lugar en ST+2%CA, mientras que la menor fue en el SR1 sin FO (Tabla II). La tasa constante fue 0,17cm·h⁻¹ y sugiere que fue causado por la presencia de

TABLA II
PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE SUELOS
ENMENDADOS CON FERTILIZANTE ORGÁNICO (FO)
Y CULTIVADOS CON RÁBANO

Tratamiento	Dap g·cm ⁻³	Ib cm·h ⁻¹	HTP mg·kg ⁻¹	COS		Nt %	Pdisp mg·kg ⁻¹
T1: ST (sin FO)	1,14 d [†]	7,53 a	917 c	2,85 a	0,23 a	15,99 a	
T2: ST+2%CA	1,10 d	8,01 a	633 c	3,04 a	0,29 a	16,89 a	
T3: ST+2%EP	1,10 d	7,50 a	1.117 c	2,95 a	0,27 a	15,43 a	
T4: SR1 (sin FO)	1,86 a	0,17 b	10.156 a	1,0 e	0,13 b	9,21 ab	
T5: SR1+2%CA	1,86 a	0,20 b	10.666 a	1,03 cde	0,10 b	9,92 ab	
T6: SR1+2%EP	1,80 ab	0,20 b	12.216 a	0,95 e	0,11 b	10,4 ab	
T7: SR2 (sin FO)	1,82 a	0,23 b	10.890 a	1,0 de	0,12 b	11,39 b	
T8: SR2+2%CA	1,85 a	0,25 b	12.395 a	1,0 de	0,14 b	10,97 b	
T9: SR2+2%EP	1,81 a	0,20 b	10.878 a	1,08 cde	0,10 b	11,24 b	
T10: SR3 (sin FO)	1,60 c	0,30 b	6.940 b	1,70 b	0,12 b	9,27 ab	
T11: SR3+2%CA	1,67 c	0,50 b	10.513 a	1,45 bc	0,11 b	5,87 c	
T12: SR3+2%EP	1,75 ab	0,30 b	6.473 b	1,45 bc	0,11 b	7,78 bc	

[†] Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias estadísticas significativas (Tukey; p≤0,05; a>b; n=8). ST: suelo testigo, SR1: suelo restaurado 1, SR2: suelo restaurado 2, SR3: suelo restaurado 3, CA: cachaza, EP: estiércol de pollo, Dap: densidad aparente, Ib: tasa de infiltración básica, COS: carbono orgánico del suelo, Nt: nitrógeno total, y Pdisp: fósforo disponible.

TABLA III
INTERACCIONES DE LOS FACTORES TIPOS DE SUELO
Y DE FERTILIZANTE ORGÁNICO PARA LOS
PARÁMETROS EN SUELO Y PLANTA DE RÁBANO

	Fertilizante		
	Suelo (S)	orgánico (FO)	S*FO
Densidad aparente	0,000	0,961	0,000
Infiltración básica	0,000	0,974	0,000
Carbono orgánico del suelo	0,000	0,813	0,000
Nitrógeno total en suelo	0,000	0,758	0,000
Fósforo disponible en suelo	0,004	0,528	0,000
Carbono de biomasa microbiana	0,000	0,813	0,000
Hidrocarburos totales del petróleo	0,000	0,602	0,000
Altura de planta	0,000	0,297	0,000
Biomasa seca de raíz	0,000	0,887	0,002
Biomasa seca de bulbo	0,000	0,813	0,000
Biomasa seca foliar	0,000	0,984	0,000
Biomasa seca total	0,000	0,983	0,000
Nitrógeno foliar	0,000	0,758	0,000
Fósforo foliar	0,000	0,528	0,000
Bacterias fijadoras de nitrógeno	0,000	0,278	0,000
Bacterias solubilizadoras de PO ₄	0,000	0,394	0,000

TABLA IV
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN PEARSON ENTRE LAS VARIABLES DEL SUELO, DE LA PLANTA
Y RIZOSFERA DE RÁBANO

Variable	Suelo					Planta					Rizósfera	
	Dap	Ib	COS	Nt	Pdisp	C-bio	BSF	BSB	Nf	Pf	BFN	BSP
HTP	0,902**	-0,882**	-0,884**	-0,758**	NS	-0,770**	-0,869**	-0,859**	-0,868**	-0,748**	0,251*	-0,297*
Dap		-0,721**	-0,742**	-0,799**	NS	-0,485**	-0,830**	-0,818**	-0,849**	-0,763**	-0,258*	-0,464**
Ib			0,931**	0,879**	NS	0,829**	0,936**	0,909**	0,932**	-0,469**	0,282*	NS
COS				0,799**	NS	0,794**	0,910**	0,899**	0,904**	0,749**	0,300**	0,317**
Nt					NS	0,747**	0,824**	0,766**	0,782**	0,638**	0,250*	0,297*
Pdisp						NS	NS	NS	0,242*	NS	NS	-0,408**
C-bio							0,715**	0,705**	0,695**	0,477**	NS	NS
BSF								0,985**	0,986**	0,830**	0,310**	0,430**
BSB									0,966**	0,798**	0,356**	0,475**
Nf										0,788**	0,276*	0,408**
Pf											NS	0,366**
BFN												NS

*Con diferencias significativas, (Tukey, p≤0,05; n=8), **con diferencias altamente significativas (Tukey, p≤0,01; n=8), NS: no significativo. Dap: densidad aparente, Ib: tasa de infiltración básica, COS: carbono orgánico del suelo, Nt: nitrógeno total, Pdisp: fósforo disponible, C-bio: carbono de la biomasa microbiana, BSF: biomasa seca foliar, BSB: biomasa seca de bulbo, Nf: nitrógeno foliar, Pf: fósforo foliar, BFN: bacterias fijadoras de nitrógeno, y BSP: bacterias solubilizadoras de fosfatos.

HTP (-0,882**) (Tabla IV). La adición de 2% de CA o de EP en el suelo SR1 indujo mejoras mínimas en la Ib, el incremento fue 17,6%; en SR2 fue de 8,7% y en el SR3 aumentó a 67% por efecto de la CA. La ausencia de cambios positivos en la Dap y en la Ib indica la conveniencia de aumentar las cantidades de CA o de EP, o incluso repetir el proceso de restauración del suelo. Esta respuesta fue similar a las obtenidas por Lindstrom *et al.* (1984) y Asefa y Tanner (1998), quienes incorporaron residuos

de cosecha a suelos sin restauración de la contaminación. Otros estudios (Trujillo-Narcía *et al.*, 2012) identificaron que en suelos superficiales restaurados aún existen de 21.691 a 29.871mg·kg⁻¹ de HTP, que origina disminución de la Ib (-0,926**), menor retención de agua (-0,881**) debido a valores altos hasta de 2,1g·cm⁻³ de Dap y efecto negativo de valores altos de la Dap que repercute en la Ib (-0,968**).

Hidrocarburos del petróleo en suelo, C orgánico, N y P en suelo

Los tres suelos (SR1, 2 y 3) tuvieron las mayores concentraciones de HTP y también

los menores contenidos de COS, Nt y Pdisp comparados con el control ST (Tabla II), con diferencias significativas (Tukey; p≤0,05) entre tratamientos. Las interacciones de factores mostraron efectos significativos del tipo de suelo (S) y de suelo-FO (S×FO) pero no de FO (Tabla III). Los tres SR aún contienen de 6.473 a 12.395mg·kg⁻¹ de HTP (Tabla II), que comparados con la fracción pesada del petróleo rebasan los límites máximos permisibles indicados en la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2013). Resultados similares en suelos restaurados fueron reportados (Rivera-Cruz *et al.*, 2005) hasta con 79.457mg·kg⁻¹ y también (Trujillo-Narcía *et al.*, 2012) de 21.699 a 22.800mg·kg⁻¹ en la capa superficial del suelo. Los suelos con mayores contenidos de HTP (12.216 y 12.395mg·kg⁻¹) fueron los SR1 y SR2 enmendados con EP y CA, respectivamente, resultando 16,9 y 12,1% superior a los tratamientos SR1 y SR2 sin FO. Este incremento posiblemente se debe a la incorporación de compuestos carbonados indiferenciados del petróleo presentes en los ST sin FO, y que según Ponce y Botello (2005) son sintetizados por la combustión de la biomasa vegetal y animal terrestres que contribuyen al aporte natural tanto de los hidrocarburos alifáticos como aromáticos.

Otra posible causa del incremento de los HTP es la capacidad del solvente en la extracción no sólo del carbono del petróleo, también de la CA y del EP.

La cantidad de COS en el ST aumentó 6,7% por la adición de CA pero no hubo diferencias estadísticas con el ST sin FO ni con el enmendado con 2% de EP (Tabla II). La incorporación de 2% de CA y 2% de EP en los tres SR

TABLA V
CARBONO DE LA BIOMASA MICROBIANA Y DENSIDADES DE BACTERIAS EN LA RIZÓSFERA DE RÁBANO SEGÚN TIPO DE SUELO Y FERTILIZANTE ORGÁNICO (FO) APLICADO DESPUÉS DE 35 DÍAS DE CRECIMIENTO

Tratamiento	C-biomasa microbiana mgC/100g suelo	Bacterias	
		BFN	BSP
T1: ST (sin FO)	75,83 a †	10 a	18 a
T2: ST+2%CA	92,56 a	61 a	3,8 b
T3: ST+2%EP	72,01 a	11 a	29 a
T4: SR1 (sin FO)	5,02 c	2 b	3,8 b
T5: SR1+2%CA	16,60 c	16 a	1,2 b
T6: SR1+2%EP	3,03 c	6,9 b	1,2 b
T7: SR2 (sin FO)	17,78 c	2,3 b	0,63 c
T8: SR2+2%CA	12,28 c	1,6 b	8,1 b
T9: SR2+2%EP	15,28 c	4,4 b	9,9 b
T10: SR3 (sin FO)	8,88 c	3,3 b	21 a
T11: SR3+2%CA	10,66 c	4,3 b	17 a
T12: SR3+2%EP	37,81 cb	7,8 b	14 a

† Letras diferentes en cada columna indican diferencias estadísticas significativas (Tukey; $p \leq 0,05$; $a > b$; $n=8$). ST: suelo testigo, SR1: suelo restaurado 1, SR2: suelo restaurado 2, SR3: suelo restaurado 3, CA: cachaza, EP: estiércol de pollo, BFN: bacterias fijadoras de nitrógeno, y BSP: bacterias solubilizadoras de fosfato.

TABLA VI
EFECTOS DE TIPO DE SUELO Y FERTILIZANTE ORGÁNICO EN LAS BIOMASAS RADICAL, FOLIAR, BULBO, TOTAL; ACUMULACIÓN DE N Y P EN PLANTA DE RÁBANO EN DOS CICLOS AGRÍCOLAS DURANTE 35 DÍAS

Tratamientos	Biomasa seca (g peso seco)				Acumulación (mg)	
	Radical	Foliar	Bulbo	Total	Nf	Pf
T1: ST (sin FO)	8,71 a †	152,09 a	127,73 a	291,87 a	641,36 b	79,64 b
T2: ST+2%CA	9,87 a	162,16 a	144,54 a	316,58 a	699,22 ab	80,74 b
T3: ST+2%EP	8,55 a	165,82 a	144,15 a	318,53 a	835,89a	140,43 a
T4: SR1 (sin FO)	1,52 b	6,40 c	2,25 c	10,19 c	29,31 d	2,82 c
T5: SR1+2%CA	0,72 b	4,63 c	2,02 c	7,37 c	20,22 d	2,15 c
T6: SR1+2%EP	1,19 b	3,43 c	0,54 c	5,17 c	25,22 d	1,54 c
T7: SR2 (sin FO)	1,40 b	17,16 bc	8,96 c	27,52 c	71,55 d	5,82 c
T8: SR2+2%CA	1,07 b	9,68 c	5,47 c	16,23 c	38,08 d	4,35 c
T9: SR2+2%EP	1,64 b	15,99 bc	10,44 c	28,08 c	92,10 d	5,89 c
T10: SR3 (sin FO)	2,17 b	29,91 b	32,81 b	64,90 c	125,98 c	41,14 bc
T11: SR3+2%CA	3,78 b	33 b	30,73 b	67,51 c	144,43 c	46,45 bc
T12: SR3+2%EP	2,05 b	33,79 b	34,82 b	70,66 c	157,43 c	46,40 bc

† Valores con letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias estadísticas entre medias de tratamiento (Tukey; $p \leq 0,05$; $a > b$; $n=8$). ST: suelo testigo, SR1: suelo restaurado 1, SR2: suelo restaurado 2, SR3: suelo restaurado 3, CA: cachaza, EP: estiércol de pollo, Nf: nitrógeno foliar, y Pf: fósforo foliar.

indujo cambios significativos en los contenidos de COS (Tukey; $p \leq 0,05$) en SR1+2%CA y en SR2+2%EP, pero no igualó la cantidad de COS del ST, por lo que no representa una alternativa viable para aumentar la cantidad de COS. La presencia de grietas en el suelo y valores máximos de Dap de $2,1g \cdot cm^{-3}$ (Trujillo-Narcía *et*

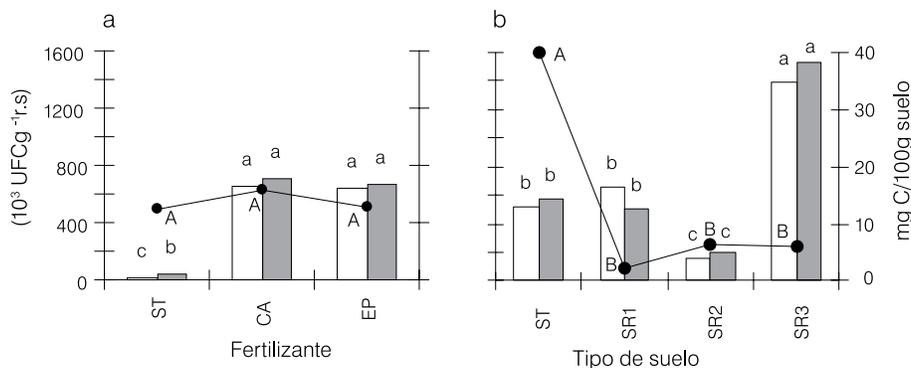


Figura 1. Efecto de fertilizante orgánico (a) y tipo de suelo (b) en la población de bacterias fijadoras de N de vida libre (BFN) (□), solubilizadoras de fosfatos (BSP) (■) y C-biomasa microbiana (●) en rizósfera de rábano a los 35 días después de la siembra. ST: suelo testigo, SR1: suelo restaurado 1, SR2: suelo restaurado 2, SR3: suelo restaurado 3, CA: cachaza, y EP: estiércol de pollo (Tukey; $p \leq 0,05$; $a > b$; $n=8$).

al., 2012) sugiere que ambos FO fueron transportados por el agua hacia el subsuelo o por escorrentía, de modo que la enmendación es probable que ocurrió fuera de la parcela experimental. Para el mejoramiento del suelo es necesario que el sustrato orgánico adicionado sea colonizado por microorganismos (Badalucco y Kuikan, 2001) y ocurran los procesos de degradación y mineralización de las macromoléculas carbonadas. Los resultados (Tabla II) muestran que en el ST aumentó 6,7% el COS en el ST+2%CA, lo que coincidió con el efecto positivo de la incorporación de residuos animal y vegetal (Meijide *et al.*, 2007; Shafi *et al.*, 2007) y se reflejó también en el incremento de producción de biomasa seca (Tabla VI).

El aumento del Nt aportado por la CA y el EP, en el ST y en los tres SR, no registró cambios estadísticos significativos dentro de cada tipo de suelo (Tabla II), pero sí por efecto de tipo de suelo y de la interacción SxFO (Tabla III). Se identificaron correlaciones negativas (Tabla IV) entre Nt-HTP (-0,758**) y Nt-Dap (-0,799**). El ST acumuló mayor cantidad de

Nt con la adición de CA y EP; las cantidades fueron 0,29 y 0,27% respectivamente, resultados similares a los obtenidos por Wu *et al.* (2005) al incorporar FO a un suelo también sin contaminación.

Los contenidos de Pdisp en los cuatro suelos evidenciaron tendencia similar que la de Nt (Tabla II), no ocurrieron cambios significativos (Tukey; $p \leq 0,05$) por efecto de CA o de EP, pero sí por tipo de suelo y también por la interacción de SxFO (Tabla III). Además, sólo ocurrieron correlaciones significativas (Tabla IV) entre Pdisp-Nf (0,242*) y Pdisp-BSP (0,297*). Esto sugiere que la planta no absorbió P del suelo, posiblemente porque la escorrentía y la percolación removieron este elemento nutritivo, o por la ausencia de sincronía cuando el P es liberado durante periodos de poca demanda vegetal y la tasa de liberación es mayor que la absorción (Meléndez, 2003). Otra posible causa de la ausencia del Pdisp en el suelo es su baja solubilidad (Bohn *et al.*, 1993). Los tres SR son medianamente alcalinos y el ST es neutro (Tabla I), lo que se confirmó con la disminución de 91 veces el Pf del SR1+2%EP respecto al Pf en el ST+2%EP (Tabla VI).

Carbono de la biomasa microbiana y densidad de bacterias en rizósfera

El C-biomasa microbiana y las densidades de BFN y BSP aisladas de la rizósfera del rábano tuvieron diferencias estadísticas (Tukey; $p \leq 0,05$) entre medias de tratamientos (Tabla V, Figuras 1 y 2), y también hubo efecto de tipo de suelo y de la interacción tipo de sueloxFO (Tabla III). El tratamiento integrado con ST+2%CA estimuló la cantidad de C-biomasa microbiana (92,56mg C/100g suelo) respecto al ST sin FO (Tabla V); el mismo efecto indujo en la densidad de BFN (61×10^4 UFC/g rizosfe-

ra seca), pero en las BSP la mayor densidad (29×10^4 UFC) fue promovida por el ST+2%EP. La densidad de las BSP en el SR3 y SR3+2%EP fue similar estadísticamente a la densidad del ST y del ST+2%EP (Tabla V, Figura 1a). De acuerdo con Giri *et al.* (2005) y Tejada *et al.* (2006) las enmiendas con FO proporcionan carbono y aumentan el C-biomasa microbiana, porque disponen de nuevas fuentes de energía para su crecimiento. En el presente estudio se identificó una correlación altamente significativa ($0,747^{**}$) del Nt con el C-biomasa y significativa ($0,250^*$) con BFN (Tabla IV). Se identificaron también (Tabla IV) correlaciones significativas pero negativas entre el C-biomasa-Dap ($-0,485^{**}$), la densidad de BFN-Dap ($-0,258^*$), BSP-Dap ($-0,464^{**}$), C-biomasa-HTP ($-0,770^{**}$) y BSP-HTP ($-0,297^*$). La inhibición de las densidades microbianas se asocian con los altas cantidades de HTP (Rhodes y Hendricks, 1990), lo que inhibe la actividad biológica en el suelo, altera los ciclos biogeoquímicos y afecta la productividad del ecosistema.

Crecimiento vegetal, acumulación de biomasa y de macronutrientes en planta

La altura de la planta (AP) en cuatro de los cinco tiempos evaluados (Figura 2) muestra diferencias estadísticas significativas (Tukey; $p \leq 0,05$) entre las medias de los 12 tratamientos. La AP medida el día 7 después de la siembra (DDS) es estadísticamente igual en los 12 tratamientos, no se encontró efecto de tipo de suelo ni de tipo FO, sin embargo a partir del día 14 DDS ocurrió efecto de tipo de suelo, no así de FO. Las mediciones efectuadas los días 14, 21, 28 y 35 evidencian que la mayor altura fue en plantas establecidas en el ST sin FO,

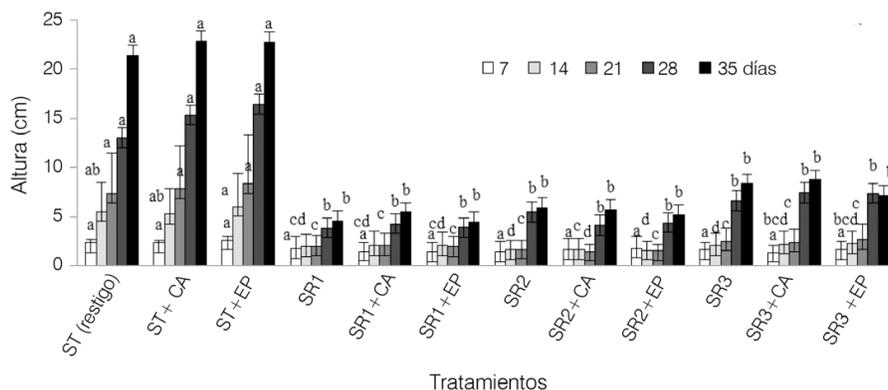


Figura 2. Variación en el crecimiento de la planta de rábano por efecto de tipo de suelo y tipo de fertilizante en cinco tiempos después de la siembra, en dos ciclos agrícolas. Valores con letras diferentes dentro de cada tiempo indican diferencias estadísticas entre medias de tratamientos (Tukey; $p \leq 0,05$; $a > b$; $n = 8$).

en ST+2%CA y en ST+2%EP. La planta más alta alcanzó una media de 22,8cm en ST+2%EP (Figura 2); por el contrario, la adición de CA o de EP en los tres SR no originó aumento de la AP (Tukey; $p \leq 0,05$) durante el ciclo vegetativo de 35 días. Estudios en invernadero realizados por Arévalo *et al.* (2010) muestran que la planta de rábano, a los 30 DDS, tiene mayor altura en suelos testigo enmendados con 1% de pollinaza, asimismo identificaron que la adición de 2% de pollinaza originó toxicidad en la planta, la altura fue menor y las hojas mostraron necrosis y clorosis por la exposición a este FO. En los suelos compactados, según Lambers *et al.* (1999), el crecimiento vegetal y de raíces se reduce, las raíces son pequeñas y sin pelos radicales con exploración mínima debido a la falta de suplemento de agua y de nutrientes.

Al momento de la cosecha de la planta (día 35) el tipo de suelo (S) y la interacción con los FO (S \times FO) originaron efectos significativos (Tukey; $p \leq 0,05$) en la BSR, BSF, BSB, BST, Nf y Pf (Tablas III y VI). Al igual que en la AP, éstos cinco parámetros de la planta de rábano aumentaron de valor en el ST sin FO y también en los tratamientos ST+2%CA y ST+2%EP (Tabla VI, Figuras 1 y 2). La presencia de HTP en los tres SR varió de 6.473 a 12.395mg \cdot kg $^{-1}$ (Tabla II); la exposición de la planta al petróleo causó daño

y toxicidad, manifestándose en la disminución de la cantidad y tamaño de las hojas y del bulbo, además causó hasta 92% de mortalidad de las plantas. Los HTP muestran (Tabla IV) correlaciones negativas con la BSF ($-0,869^{**}$) y con la BSB ($-0,859^{**}$), mientras que fueron positivas entre Nt-BSF ($0,824^{**}$), Nt-BSB ($0,766^{**}$) y entre BSF-BSB ($0,985^{**}$). Resultados experimentales (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2007) basados en la adición de 5% de composta de sustrato de café adicionado en suelo con 5% de combustóleo incrementó 90% la materia seca de la leguminosa *Phaseolus coccineus*. Resultados positivos fueron también inducidos (Arévalo *et al.*, 2010) por la incorporación de 1% de pollinaza en suelo con 1,7% de HTP, aumentó 42% la biomasa foliar en la crucífera *R. sativus* respecto al suelo testigo. En la conífera arbórea *Podocarpus polystachyus* aumentó en 81% la biomasa foliar en suelo con 2,5% de petróleo por efecto de la fertilización con residuos vegetales de soja (Dardasnia y Agamuthu, 2013).

Las concentraciones de N y de P en el follaje en los 12 tratamientos tienen diferencias estadísticas (Tukey; $p \leq 0,05$; Tabla VI). La acumulación de Nf en los 12 tratamientos varió de 20,22 (SR1+2%CA) a 836mg (ST+2%EP), el Pf fluctuó de 1,54 (SR1+2%EP) a 140,43mg (ST+2%EP). Las mayores cantidades foliarias de Nf y Pf correspondieron a las

plantas establecidas en el tratamiento ST+2%EP (Tabla VI). Esta respuesta sugiere que se asocia con las características físicas y químicas (Tabla I) del ST y de los tres SR, y además a las concentraciones de N y P en la CA y el EP. El ST tiene textura migajón arcillosa y la tasa de Ib es 8,33cm \cdot h $^{-1}$, condiciones que favorecen el flujo de la solución del suelo y también la adsorción y absorción de los nutrientes. Ambos atributos físicos forman condiciones favorables para el crecimiento y exploración de las raíces y estimula el crecimiento vegetal (Marschner, 1995; Porta *et al.*, 2003). De entrada, el ST es más fértil que los tres SR, tiene 3,4 veces más Nt y 3,3 más Pdisp (Tabla I); además, los contenidos nutrimentales son diferentes entre ambos FO, la CA es menos fértil que el EP, tiene 1,2% de Nt y 850mg \cdot kg $^{-1}$ de Pdisp; el EP posee 2,98% de Nt y 1.370mg \cdot kg $^{-1}$ de Pdisp; por lo tanto, la CA tiene 1,5 y 0,6 veces menor cantidad de Nt y Pdisp, respectivamente. En la presente investigación (Tabla IV) se identificó correlación positiva altamente significativa entre Nf-BSF ($0,986^{**}$), Nf-BSB ($0,966^{**}$), Pf-BSF ($0,966^{**}$) y Pf-BSB ($0,798^{**}$) y relación inversa entre Nf-HTP ($-0,868^{**}$) y también entre Pf-HTP ($-0,748^{**}$). Estos resultados difieren cuando se utilizan pastos (*Brachiaria mutica*) tolerantes a factores de estrés y que acumulan nitrógeno foliar pero no en leguminosas sensibles (*Leucaena leucocephala*), que son menos tolerantes a la exposición a petróleo crudo fresco o intemperizado (Rivera-Cruz *et al.*, 2012).

Conclusiones

La aplicación de cachaza y estiércol de pollo promovió efectos positivos en las propiedades físicas y químicas del

suelo testigo. Los suelos restaurados, con niveles bajos de infiltración de agua, densidad aparente grande y concentraciones altas de hidrocarburos del petróleo, no mejoraron a pesar de la enmendación con la cachaza y el estiércol de pollo.

La relación positiva de la biomasa foliar y biomasa del bulbo de rábano con los parámetros químicos (COS, Nt) y microbiológicos (C-biomasa, BFN y BSP) encontrados en este estudio permite recomendar el uso de los FO para mejorar suelos restaurados de la contaminación con HTP. La mejor respuesta a la FO en los parámetros microbiológicos, el crecimiento del rábano y la acumulación de nutrientes en follaje, es más efectiva en el Fluvisol testigo y en SR3. La presencia de una relación negativa de la Dap e HTP del suelo con los parámetros evaluados en rizósfera y planta de rábano es un indicador de la necesidad de seguir buscando estrategias para la productividad biológica de estos suelos que requieren restauración. El aporte de este trabajo es una alternativa para conocer y mejorar la productividad biológica de estos suelos restaurados que requieren rehabilitación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Rubén Sánchez Torres y Leticia García Tiquet por las facilidades para la realización del estudio en sus terrenos; a Fondos Mixtos CONACYT-Gobierno del Estado de Tabasco, por el financiamiento del proyecto TAB-2009-C18-122174; y al Colegio de Postgraduados por el apoyo del Fideicomiso Revocable de Administración e Inversión No.167304, convocatorias 2009 y 2010.

REFERENCIAS

Adams HR (2004) Chemical-biological stabilization of hydrocarbon-contaminated soil and drilling cuttings in tropical Mexico. *Land Contam. Reclam.* 12: 349-361.

Antizar-Ladislao A, Lopez-Real JM, Beck AJ (2004) Bioremediation

of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated waste using composting approaches. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 34: 249-89.

Arévalo CJ, Rivera-Cruz MC, Trujillo-Narcía A, Maldonado-Chávez E (2010) Efectos de la fertilización orgánica e inorgánica en suelo restaurado por fuga de petróleo y en planta de rábano. En Castañeda MOG (Coord) *XXII Reunión Científica-Tecnológica, Forestal y Agropecuaria Tabasco*. INIFAP Tabasco. México. pp. 268-280.

Asefa T, Tanner DG (1998) Effect of stubble management, tillage and precursor crop on soil penetration resistance in southeastern Ethiopia. En Kidane G, Yohanes D (Eds.) *Proc. Conf. Agronomy and Crop Physiology Society of Ethiopia on Crop Management Options to Sustain Food Security*. (29-30/05/1998). Addis Abeba, Etiopía. pp. 62-74.

Badalucco L, Kuikman JP (2001) Mineralization and immobilization in the rhizosphere. En Pinton R, Varanini Z, Nannipieri (Eds.) *The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*. Dekker. Nueva York, EEUU. pp. 259-197.

Blake GR, Hartge KH (1986) Bulk Density. En Klute A (Ed.) *Methods of Soil Analysis. Part I. Physical and Mineralogical Methods*. Agronomy Monograph N° 9 (2nd ed.). ASA / SSSA. Madison, WI, EEUU. pp. 363-375.

Bohn HL, McNeal BL, O'Connor GA (1993) *Química del Suelo*. 1^a ed. Limusa. México. 370 pp.

Bouwer H (1986) Intake rate: cylinder infiltrometer. En Klute A (Ed.) *Methods of Soil Analysis. Part I. Physical and Mineralogical Methods*. Agronomy Monograph N° 9 (2nd ed.). ASA/SSSA. Madison, WI, EEUU. pp. 825-844.

Bouyoucos GJ (1962) Hydrometer improved methods for making particles size analysis of soil. *Agron. J.* 54: 464-465.

Cébron A, Cortet J, Criquet S, Biaz A, Calvert V, Caupert C, Pernin C, Leyval C (2011) Biological functioning of PAH-polluted and thermal desorption-treated soils assessed by fauna and microbial bioindicators. *Res. Microbiol.* 162: 896-907.

Dadrasnia A, Agamuthu P (2013) Bioremediation of diesel fuel contaminated soil by *Podocarpus polystachyus* enhanced with organic wastes. *Malays. J. Sci.* 32: 9-14.

DOF (2006) *NMX-AA-134-SC-FI-2006. Suelo-Hidrocarburos Fracción Pesada por Extracción*

y *Gravimétrico - Método de Prueba*. (12/10/2005) Dirección de Normalización. SEMARNAT. México. 27 pp.

DOF (2013) *Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012. Límites Máximos Permisibles de Hidrocarburos en Suelos y Lineamientos par el Muestreo en la Caracterización y Especificaciones para la Remediación*. Segunda sección. (10/09/2013). SEMARNAT, México. 16 pp.

EPA (1986) *Method 418.1 mod. Petroleum Hydrocarbon*, (Spectrophotometric Infrared). Environmental Protection Agency. Washington DC, EEUU. 8 pp.

Ferreira do NTC, Santos OFJ, Pessoa de FF (2013) Biorremediación de un suelo tropical contaminado con residuos aceitosos intemperizados. *Rev. Int. Contam. Amb.* 29: 21-28.

Ferrera-Cerrato R, Alarcón A, Mendoza-López MR, Sangabriel W, Trejo-Aguilar D, Cruz-Sánchez J, López-Ortiz C, Delgadillo-Martínez J (2007) Fitorremediación de un suelo contaminado con combustóleo utilizando *Phaseolus coccineus* y fertilización orgánica e inorgánica. *Agrociencia* 41: 817-826.

Giri B, Giang HP, Kumari R, Prasad R, Varma A (2005) Microbial diversity in soil. En Buscot F, Varma A (Eds.) *Microorganisms in Soil: Roles in Genesis and Functions*. Springer. Berlin, Alemania. pp. 19-49.

Gregory AS, Vickers AW (2003) The effects of a composted organic amendment on soil biological properties in a clay soil-forming material used as a landfill restoration cap. *Land Contam. Reclam.* 11: 315-321.

Hidalgo MC, Trejo LC, Etchevers BJD (2006) Efecto de la contaminación con hidrocarburos en la determinación de carbono del suelo. En Gallardo LJF (Ed.) *Medio Ambiente en Iberoamérica. Visión desde la Física y la Química en los Albores del Siglo XXI*. Tomo II. Sociedad Iberoamérica de Física y Química Ambiental. Badajoz, España. pp. 231-236.

INEGI (2001) *Síntesis de Información Geográfica del Estado de Tabasco*. 1^a ed. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. 100 pp. + Mapa 1:500,000.

Jenkinson DS, Powlson DS (1970) Residual effects of soil fumigation on soil respiration and mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 2: 99-108.

Lai WA, Rekha PD, Arun AD, Young CC (2008) Effect of mineral fertilizer, pig manure, and *Azospirillum rugosum* on growth and nutrient contents of

Lactuca sativa L. *Biol. Fertil. Soils* 45: 155-164.

Labbers H, Chapin III FS, Pons TL (1999) *Plant Physiological Ecology*. Springer. Nueva York, EEUU. 540 pp.

Lindstrom MJ, Voorhees WB, Onstad CA (1984) Tillage system and residue cover effects on infiltration in northwestern corn-belt soils. *J. Soil Water Cons.* 39: 64-68.

Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, Clark DP (2009) *Brock. Biología de los Microorganismos*. 12^a ed. Pearson. Madrid, España. 1259 pp.

Marschner H (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2^a ed. Academic Press. San Diego, CA, EEUU. 889 pp.

Meijide A, Díez AJ, Sánchez-Martín L, López-Fernández S, Vallejo A (2007) Nitrogen oxide emissions from an irrigated maize crop amended with treated pig slurries and composts in a Mediterranean climate. *Agric. Ecosyst. Environ.* 121: 383-394.

Meléndez G (2003) Residuos orgánicos y material orgánica del suelo. En Meléndez G, Soto G (Eds.) *Taller de Abonos Orgánicos*. CANIAN/GTZ/UCR/CAT-IE. Centro de Investigaciones Agronómicas. Sabánillas, Costa Rica. pp. 119-174.

Meunchang S, Panichsakpatana S, Weaver RW (2006) Tomato growth in soil amended with sugar mill by-products compost. *Plant Soil* 280: 171-176.

Northcott GL, Jones KC (2001) Partitioning, extractability, and formation of non-extractable PAH residues in soil: compound differences in aging and sequestration. *Environ. Sci. Technol.* 35: 1103-1110.

OECD (2006) Guideline for the Testing of Chemicals. Proposal for Updating Guideline 208. Terrestrial Plant Test: Seedling emergence and seedling growth test. Organisation for Economic Co-operation and Development. París, Francia. 19 pp.

Olsen SR, Sommers LE (1982) Phosphorus. En Page AL, Miller RH, Keeny DR (Eds.) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Micro-biological Properties*. 2^a ed. ASA/SSSA. Madison, WI, EEUU. pp. 403-430.

Page AL, Miller RH, Keeney DR (1982) Nitrogen total. En Page AL, Miller RH, Keeny DR (Eds.) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Micro-biological Properties*. 2^a ed. ASA/SSSA. Madison, WI, EEUU. pp. 595-629.

PEMEX (2011) *Contratos Adjudicados en Materia de Obra Pública Celebrados del 12 de Junio de 2003 al 30 de Septiembre de 2006*.

- http://pemex.gob.mx/files/content/p_e_p_c_o_n_t_o_p_s_e_p_0_6.pdf.01/02/2011
- PEMEX (2013) *Memoria de Labores 2012*. México. 252 pp.
- Ponce VG, Botello VA (2005) Niveles de hidrocarburos en el Golfo de México. En Botello AV, Rendón-von OJ, Gold-Bouchot G, Agraz-Hernández C (Eds.) *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias*. 2ª ed. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. pp. 269-298.
- Porta J, López-Acevedo M, Roquero C (2003) *Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente*. 3ª ed.. Mundi-Prensa. Madrid, España. 960 pp.
- Rao NS (1982) *Biofertilizers in Agriculture*. Oxford / IBH. Nueva Delhi, India. 186 pp.
- Reinaldo JLM, Cisne C (2011) Efecto de biofertilizantes (EM-Boskashi) sobre el crecimiento y rendimiento del rábano (*Raphanus sativus*). Universidad Nacional Agraria, Nicaragua. *La Calera 1*: 1-29.
- Rennie RJ (1981) A single medium for the isolation of acetylene reducing (dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Can. J. Microbiol.* 27: 8-14.
- Rivera-Cruz MC (2011) Bacterias y hongos en suelos contaminados con petróleo crudo en Tabasco. En Gamboa AM, Rojas H.R (Eds.) *Recursos Genéticos Microbianos en la Zona Golfo-Sureste de México*. Subsistema Nacional de Recursos Genéticos Microbianos (SUBNARGEM), Sistema de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa). Mérida, México. Vol. 1: 65-74.
- Rivera-Cruz MC, Trujillo-Narcía A, Miranda de la CMA, Maldonado CE (2005) Evaluación toxicológica de suelos contaminados con petróleos nuevo e intemperizado mediante ensayos con leguminosas. *Interciencia* 30: 326-331.
- Rivera-Cruz MC, Trujillo-Narcía A, Alejo Pereyra D (2010) Los biofertilizantes integrados con bacterias fijadoras de N y solubilidad de P y sustratos orgánicos en el crecimiento de naranjo agrio *Citrus aurantium* L. *Interciencia* 35: 113-119.
- Rivera-Cruz MC, Maldonado-Chávez E, Trujillo-Narcía A (2012) Effects of crude oil on the growth of *Brachiaria mutica* and *Leucaena leucocephala* and on soil and plant macronutrients. *Trop. Subtrop. Agroecosyst.* 15 (Suppl. 2): S30-S39.
- Rhodes AN, Hendricks CW (1990) A continuous-flow method for measuring effects of chemical on soil nitrification. *Toxicity Assess.* 5: 77-89.
- Sabate J, Vinas M, Solanas AM (2006) Bioavailability assessment and environmental fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in biostimulated creosote-contaminated soil. *Chemosphere* 63: 1648-1659.
- SAS (2005) *Statistical Analysis System. User's Guide*. Ver. 9.1.3. SAS Institute, Inc. Cary, NC, EEUU. 664 pp.
- Shafi M, Bakht J, Tariq JM, Shahz (2007) Soil C and N dynamics and maize (*Zea mays* L.) yield as affected by cropping systems and residue management in North-western Pakistan. *Soil Till. Res.* 94: 520-529.
- Siebert SJ, Maliba BG, Zobolo AM (2011) Poultry manure enhances grass establishment at a quarry rehabilitation site in subtropical South Africa. *Afr. J. Agricul. Res.* 6: 46-50.
- Tejada M, García C, González JL, Hernández MT (2006) Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: Influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biol. Biochem.* 38: 1413-1421.
- Trujillo-Narcía A, Rivera-Cruz MC, Lagunes-Espinoza LC, Palma-López DJ, Soto-Sánchez S, Ramírez-Valverde G (2012) Efecto de la restauración de un Fluvio-sol contaminado con petróleo crudo. *Rev. Int. Contam. Amb.* 28: 361-374.
- Vázquez-Luna M, Montiel-Flores A, Vázquez-Luna D, Herrera-Tenorio MF (2011) Impacto del petróleo crudo en suelo sobre la microbiota de vida libre fijadora de nitrógeno. *Trop. Subtrop. Agroecosist.* 13: 511-523.
- Walkley A, Black IA (1934) An examination of Degjareff method for determining soil organic matter and a pro-posed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-38.
- West RC, Psuty NP, Thom BG (1985) *Las Tierras Bajas de Tabasco en el Sureste de México*. 2ª ed. Gobierno del Estado de Tabasco. México. 409 pp.
- Wu SC, Caoz H, Liz G, Cheung MKC, Wong WH (2005) Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155-166.
- Zeng LS, Liao M, Chen CL, Huang CY (2007) Effects of lead contamination on soil enzymatic activities, microbial biomass, and rice physiological indices in soil lead rice (*Oryza sativa* L.) system. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 65: 567-574.