

EFFECTO DEL ANTRACENO EN LA ESTIMULACIÓN DEL CRECIMIENTO EN MAÍZ Y FRIJOL

Anthracene Effect on Stimulation of Growth of Maize and Kidney Bean

Beatriz Pérez-Armendáriz^{1‡}, Dolores Castañeda-Antonio², Guadalupe Castellanos²,
Teresita Jiménez-Salgado², Armando Tapia-Hernández² y Daniel Martínez-Carrera³

RESUMEN

Los efectos de hidrocarburos residuales en suelos agrícolas después de una remediación es un tema de gran interés por sus implicaciones sociales. En Acatzingo Puebla, México se restauró un suelo agrícola contaminado por un derrame de diesel. En este trabajo se evaluó la remoción de antraceno agregado a un suelo de Acatzingo, en concentraciones iniciales inducidas de 200 y 400 mg kg⁻¹, utilizando plantas de importancia agrícola de la región, maíz (*Zea mays*) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) para la fitorremediación a los 15 y 30 días de desarrollo en condiciones de invernadero. Los experimentos se realizaron en macetas de 250 g, analizando la remoción de antraceno en el suelo (%) y su concentración residual en la raíz, así como el efecto del antraceno sobre la altura de las plantas, la longitud de las raíces, el peso seco de la planta y la raíz, y el número de hojas. Se logró una remoción de antraceno del suelo de hasta 84%, a los 30 días de desarrollo del maíz y del frijol, en los tratamientos con 400 mg de antraceno por kg de suelo. Las plantas de maíz y frijol, a los 30 días con 400 mg de antraceno por kg de suelo, fueron significativamente más altas (maíz: 66.2 cm; frijol: 65.0 cm) que sus respectivos testigos. La longitud de la raíces a los 30 días tuvo mayor desarrollo en los tratamientos (maíz: 32.0 cm; frijol: 31.9 cm) que en

los tratamientos con 200 mg de antraceno (maíz: 26.8 cm; frijol: 33.1 cm).

Palabras clave: fitorremediación con frijol, fitorremediación con maíz, hidrocarburos poliaromáticos del petróleo (HPAs,) remoción de antraceno, suelo agrícola contaminado.

SUMMARY

The effect of residual hydrocarbons in agricultural soils after remediation is an important topic because of its social implications. In Acatzingo, Puebla, México, an agricultural soil contaminated by diesel spill was restored. In this work we evaluated the removal of anthracene added to a soil from Acatzingo, at initial concentrations of 200 and 400 mg kg⁻¹, using maize (*Zea mays*) and kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) for phytoremediation after 15 and 30 days of plant development under greenhouse conditions. Experiments were carried out in pots (250 g), assessing anthracene removal in soil (%) and its residual concentration in the root, as well as the effect of anthracene on plant height, root length, dry weight of plants and roots, and number of leaves. After 30 days of maize and kidney bean development in treatments, up to 84% of the anthracene was removed from the soil containing 400 mg anthracene. Residual anthracene was absent in the root in all cases. Plant height was significantly higher (maize: 66.2 cm; kidney bean: 65.0 cm) than that of control plants after 30 days cultivated in the treatment containing 400 mg anthracene in soil. After 30 days, root length was significantly longer in controls (maize: 32 cm; kidney bean: 31.9 cm) and in treatments containing 200 mg anthracene (maize: 26.8 cm; kidney bean: 33.1 cm).

Index words: agricultural soil contaminated, anthracene remove, phytoremediation with kidney bean, phytoremediation with maize, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs).

¹ Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Centro Interdisciplinario de Posgrados Investigación y Consultoría. 21 sur 1103 Col. Santiago. 72160 Puebla, México.

[‡] Autor responsable (beatriz.perez@upaep.mx)

² Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ICUP, Laboratorio de Microbiología de Suelos. Edificio 76, 3er piso, Complejo de Ciencias, CU. Jardines de San Manuel. 72000 Puebla, Puebla, México.

³ Colegio de Postgraduados. Campus Puebla. Apartado postal 701. 72001 Puebla, México.

INTRODUCCIÓN

El antraceno pertenece a la fracción de hidrocarburos poliaromáticos del petróleo (HPAs) y su presencia en el suelo se debe principalmente a derrames accidentales de petróleo o diesel. En general, después de un derrame, los HPAs pueden ser adsorbidos por los ácidos húmicos del suelo, dando como resultado alta persistencia (Laor y Rebhun, 2002). Los HPAs representan un serio problema para la biorremediación debido a sus características recalcitrantes, tales como compleja estructura molecular, baja solubilidad e hidrofobicidad. Además, los HPAs pueden ocasionar daños potenciales a la salud humana (Hamdi *et al.*, 2007), lo cual dependerá de las características físicas del suelo, la movilidad de los contaminantes y los horizontes de distribución, así como de la toxicidad y el nivel de exposición a los contaminantes (Weigand *et al.*, 2002).

La fitorremediación *in situ* representa una alternativa para restaurar los suelos contaminados por las fracciones recalcitrantes del petróleo. Se trata de una tecnología viable y eficiente desde el punto de vista ecológico y económico (Unterbrunner *et al.*, 2007). La fitorremediación permite que las plantas procesen compuestos xenobióticos, a través de mecanismos de absorción o inmovilización, además de favorecer la presencia de rizobacterias que incrementan la disponibilidad de los contaminantes (Marques *et al.*, 2010).

La asociación de los microorganismos del suelo con los nutrientes de los exudados de las raíces de las plantas puede estimular la fitorremediación de compuestos químicamente complejos (Gao *et al.*, 2007). El uso de plantas comestibles y pastos para la fitorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos se ha estudiado recientemente, demostrando que plantas de importancia agrícola pueden tolerar altas concentraciones de hidrocarburos (Ayotamuno y Kogbara, 2007).

México es un importante productor mundial de petróleo. Sin embargo, esta actividad ha provocado no sólo problemas de contaminación ambiental por hidrocarburos, sino también daños a la salud y pérdidas humanas en diversas partes del territorio nacional. Se ha registrado incluso que, después de un proceso de biorremediación, en algunos casos aún se detectan altas concentraciones de HPAs (García-López *et al.*, 2006). La contaminación por accidentes o derrames

de hidrocarburos afecta principalmente terrenos agrícolas con diversos cultivos, tales como maíz y frijol, que son la base de la alimentación mexicana. En 2002 hubo un derrame de diesel en el municipio de Acatzingo, Puebla, en suelos agrícolas. Después del derrame, los afectados han solicitado el apoyo de los investigadores para recuperar sus tierras y seguirlas cultivando. El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto del antraceno en concentraciones de hasta 400 mg kg⁻¹ en suelo de la región de Acatzingo sobre el crecimiento de las plantas a los 15 y 30 días de desarrollo en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y Caracterización del Suelo

El muestreo del suelo se realizó en una zona agrícola de Acatzingo, Puebla, México con coordenadas 18° 57' 03.0" N y 97° 46' 20.5" O. Previo a los experimentos, se realizó la caracterización del suelo con base en la norma oficial mexicana (NOM-021-SEMARNAT-2000). El suelo utilizado fue de textura areno-migajosa, pH 7.48, con 1.94% materia orgánica, nivel de saturación de 3.9% y concentración de nitrógeno de 0.5%.

Diseño Experimental

Se utilizó un arreglo completo por bloques al azar. Los bloques fueron los cultivos (maíz y frijol) las muestras se evaluaron a los 15 y 30 días de estudio. Se estudiaron para cada bloque dos concentraciones de antraceno en suelo que fueron 200 y 400 mg por kg de suelo. En total fueron ocho tratamientos y cada uno tuvo tres repeticiones. Además, se incluyeron ocho testigos con tres repeticiones, considerando concentración y tiempo estudiados (testigo sin cultivo con 200 y 400 mg de antraceno por kg de suelo para 15 y 30 días; testigo con maíz y frijol sin contaminante para 15 y 30 días).

La contaminación inducida del suelo se llevó a cabo de la siguiente manera: 1) se tomó un lote de 2 kg de suelo, previamente tamizado y secado; 2) el antraceno inicial se agregó disuelto en 100 mL de metanol; 3) el suelo se contaminó con 1600 mg por kg de suelo de antraceno, mezclando manualmente por 1 h y por cuarteo, de acuerdo a la norma mexicana (NOM-138-SEMARNAT/SS-2003); 4) se integraron 2 kg de suelo adicionales para obtener una concentración

de 800 mg kg⁻¹ y se homogenizó; 5) se adicionaron otra vez 4 kg de suelo para obtener 8 kg totales de suelo homogenizado con una concentración de 400 mg kg⁻¹; y 6) este lote se dividió en 4 kg para las macetas de estudio con esa concentración, mientras que a los 4 kg restantes se les adicionaron otros 4 kg de suelo y se homogenizaron para lograr una concentración a estudiar de 200 mg kg⁻¹. Las mezclas del suelo con el hidrocarburo se llevaron a cabo en recipientes de vidrio.

Las unidades experimentales fueron macetas de 250 g de capacidad, las cuales se llenaron con 125 g del suelo preparado y contaminado con 200 y 400 mg kg⁻¹. Los testigos se llenaron con suelos no contaminados con y sin semillas. Para los tratamientos con maíz y frijol se agregaron cinco semillas de cada cultivo estudiado. Las semillas empleadas fueron criollas seleccionadas en 2007 por productores de la región de Huejotzingo, Puebla, México. El estudio se llevó a cabo en condiciones controladas de invernadero (18-25 °C) y las plantas fueron analizadas a los 15 y 30 días de crecimiento. La humedad relativa inicial fue del 60% con riego manual tres veces por semana. Asimismo, al final de los períodos, se estudiaron las siguientes variables: remoción de antraceno del suelo (%), antraceno residual (µg g⁻¹) en el suelo y en la raíz, altura de la planta (cm), longitud de la raíz (cm), peso seco de la planta (g), peso seco de la raíz (g), y número de hojas por planta. La altura de la planta se determinó colocándola en su posición recta, considerando como punto inicial de medición el nivel del suelo. La longitud de la raíz principal se evaluó eliminando manualmente el suelo y colocándola en posición vertical, partiendo de la base del tallo como punto cero de medición. El peso seco de tallo, hojas y raíz se determinó cortando dichas partes de la planta en trozos de ± 2 cm de longitud, secándolas en un horno (Felisa, México) a 100 °C hasta peso constante.

Determinación de Antraceno en Suelo y Raíz

Se realizó por cromatografía de gases acoplada a masas (CG/MS), usando un equipo Hewlett Packard/Agilent Technologies (Palo Alto, CA, Estados Unidos), con una columna HP-5MS. Se empleó el método 8270 de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos para la determinación de compuestos semi-volátiles por CG/MS (EPA Method 8270C, 1996). La muestra de suelo o raíz se secó a 100 °C por una noche. Posteriormente, se tomaron 2 g de cada muestra

y se le adicionaron 150 mL de hexano grado HPLC (SIGMA, México). La mezcla se reflujo por soxhlet durante 4 h. Las muestras se concentraron a 2 mL en un concentrador Kuderna Danish (Pyrex, México). Se tomó 1 µL del filtrado y se inyectó al cromatógrafo de gases.

Análisis Estadístico

Para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos se aplicó un análisis de varianza para un modelo completo de bloques aleatorizados. Posteriormente, se empleó la prueba de Tukey para realizar las comparaciones múltiples entre los tratamientos, con un nivel de significancia del 95%. Los resultados fueron analizados empleando el programa estadístico Minitab 14.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Remoción de Antraceno

En el Cuadro 1 se muestra la remoción de antraceno con los tratamientos estudiados. En los tratamientos con 30 días se observó una mayor remoción de antraceno. Los testigos sin plantas mostraron mínima remoción del antraceno. Para los tratamientos testigos con tratamiento de 200 mg kg⁻¹ de suelo, a los 15 días, la remoción fue nula; sin embargo, a los 30 días fue cercana al 10%. Con el tratamiento de 400 mg kg⁻¹, a los 15 días, la remoción fue de 1.0%, mientras que a los 30 días esta fue de 5.1%. Sin embargo, no hubo diferencias significativas.

En el tratamiento con maíz, el tratamiento con 200 mg kg⁻¹ de suelo, a los 15 días, se obtuvo una remoción de antraceno de 36.6%; en el caso del frijol, bajo las mismas condiciones, la remoción fue de 52.1%. Para el caso de la concentración de 200 mg kg⁻¹ de antraceno en el suelo, empleando maíz, a los 30 días, se registró remoción de 54.9%, mientras que empleando frijol la remoción fue de 81.9%. Estos resultados mostraron que el maíz resultó más sensible al nivel de 200 mg de antraceno por kg de suelo, resultados similares fueron reportados por Kyung-Hwa *et al.* (2004), ellos trabajaron con maíz y ejotes y su tolerancia con petróleo crudo, encontrando que el maíz fue menos tolerante para los hidrocarburos alifáticos y aromáticos, ellos indican que esta diferencia se debe a la diversidad en el sistema

Cuadro 1. Remoción promedio del antraceno inicial en suelo y antraceno residual promedio en las raíces de maíz y frijol. Valores promedio [n=3] ^(*)

Bloque	Tiempo	Suministro de antraceno	Remoción de antraceno residual	Remoción de antraceno del suelo
Cultivo	Días	mg kg ⁻¹ suelo	µg g ⁻¹ suelo	%
Maíz	15	200	126.77 ± 16.51 d	36.6
	30	200	90.20 ± 10.95 e	54.9
	15	400	311.66 ± 5.88 b	22.0
	30	400	64.00 ± 11.10 e,f	84.0
	15	200	95.62 ± 17.94 d	52.1
Frijol	30	200	36.05 ± 2.08 f	81.9
	15	400	106.98 ± 11.92 d	73.2
	30	400	63.71 ± 8.56 e,f	84.0
	15	200	201.00 ± 0.17 c	0.0
Testigo sin plantas	30	200	179.50 ± 5.05 c	9.9
	15	400	396.11 ± 0.17 a	1.0
	30	400	379.56 ± 8.76 a	5.1

^(*) Los valores acompañados por letras iguales no presentaron diferencia significativa ($P < 0.01$). ND = no detectable.

de difusión de los contaminantes hacia las plantas, la disponibilidad de los nutrientes en el sistema de la planta-suelo y en las diferencias de las estructuras de la pared celular.

Además de esto, el frijol es una planta en la que se han aislado importantes microorganismos (*e.g.* rizobacterias, *Rhizobium*), los cuales tienen la capacidad de proveer nitrógeno y fósforo para que diversos organismos degradadores se desarrollen y actúen sobre las moléculas recalcitrantes, tales como los hidrocarburos (Parrish *et al.*, 2004). Respecto al maíz es una planta básica para la alimentación en México, sin embargo, en otros países se ha empleado como modelo para fitorremediar suelos contaminados. El maíz se considera una planta modelo a partir de la cual se han aislado rizobacterias, las cuales juegan un papel importante en la disponibilidad del contaminante (*Sphingobacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *Achromobacter sp.*) (Marques *et al.*, 2010) además de su importancia como promotores del crecimiento de la planta.

Con 400 mg kg⁻¹ de antraceno en suelo, después de 15 días, empleando maíz se obtuvo una remoción del 22.0%, la cual fue significativamente más baja que aquella correspondiente al frijol (73.2%). Sin embargo, la más alta remoción de antraceno se registró en el suelo contaminado con 400 mg kg⁻¹, empleando tanto maíz como frijol, a los 30 días, siendo 84.0% en ambos casos.

A los 15 días, la remoción de antraceno fue baja en todos los tratamientos estudiados, lo cual puede deberse a la adaptación de los sistemas biológicos (planta-

microorganismos) y al contaminante que se agregó al suelo. Por ello, una vez adaptados los sistemas biológicos, a los 30 días, la remoción del antraceno fue significativamente mayor. El tiempo de remoción de los contaminantes es variable, dependerá de las condiciones físicas y químicas del medio ambiente y de la tecnología seleccionada para llevar a cabo la fitorremediación; así por ejemplo Yoshitomi y Shann. (2001) reportaron la mineralización del pireno a los 15 días de estudio (en un sistema de fitorremediación en columnas) mientras que Parrish *et al.* (2004) señalan que la vida media del fenantreno puede oscilar desde 16 y hasta 126 días. A medida que pasa el tiempo, la asimilación de agua y nutrientes, así como la transpiración por parte de las plantas, promueven el crecimiento de los microorganismos rizosféricos, lo cual facilita la remoción de los contaminantes (Pivetz, 2001). Respecto a la presencia de antraceno en las raíces, no se encontraron concentraciones detectables. En las concentraciones de 200 y 400 mg kg⁻¹ de antraceno en suelo, después de 15 días y 30 días, para el caso de las raíces de frijol, así como para aquellas del maíz, fueron no detectables. Esto es muy importante desde el punto de vista de toxicología debido a que tanto el maíz como el frijol son plantas comestibles. En un trabajo más específico Lin *et al.* (2007) estudiaron la asimilación de PAH's en las raíces, hojas, tallos y cutículas en plantas de maíz, y se encontró que tanto en los tallos como en las raíces, las concentraciones de PAH's fueron significativamente mayores que en las hojas a las mismas concentraciones

de exposición, demostrando un proceso de difusión y traslocación de los contaminantes de las partes bajas hacia la aéreas.

El maíz y el frijol han sido estudiados como modelo de plantas para fitorremediar suelos contaminados con hidrocarburos (Ferrera-Cerrato *et al.*, 2007; Lin *et al.*, 2007). Los microorganismos rizosféricos juegan un papel importante en dicha remoción (Marques *et al.*, 2010), no solamente como microorganismos promotores del crecimiento de la planta, al incrementar la disponibilidad de nutrientes, tales como el nitrógeno y el fósforo (Zhuang *et al.*, 2007), sino también porque incrementan la disponibilidad del contaminante debido a su capacidad para desarrollarse utilizando los exudados de las plantas, además de poseer un sistema enzimático (monooxigenasas, diooxigenasas, lacasa y citocromo P450) capaz de degradar compuestos tóxicos (Wang *et al.*, 2007).

Efecto del Antraceno sobre el Crecimiento de las Plantas

En el maíz, a los 15 días de desarrollo, no mostró diferencia significativa ($P < 0.01$) en la altura de la planta entre los tratamientos estudiados. Sin embargo, a los 30 días, se observó que la altura de la planta fue significativamente más alta (66.2 cm) en el maíz cultivado con 400 mg kg⁻¹ de antraceno en el suelo, en relación con la altura del testigo (44 cm) y del cultivo con 200 mg kg⁻¹ de antraceno en el suelo. La altura de este último (54.4 cm) también fue significativamente más alta que aquella del testigo. Es decir, a mayor concentración de antraceno, las plantas de maíz tuvieron mayor altura. El maíz registró mayor peso seco con 400 mg kg⁻¹ de antraceno en suelo (5.1 g), que los cultivos con 200 mg kg⁻¹ (1.9 g) y significativamente mayor que el testigo (1.5 g) después de 30 días de desarrollo. Por otro lado, aquellos tratamientos analizados a los 15 días no mostraron diferencias significativas (Cuadro 2). Existen datos de tolerancia e incluso de estimulación en el rendimiento de la producción de maíz por hidrocarburos. Gunderson *et al.* (2008) mencionan que en suelos contaminados con petróleo crudo se incrementó del 40 al 70% el rendimiento de maíz en relación a suelos biorremediados; otros reportes, sin embargo, señalan efectos inhibitorios por la presencia de compuestos aromáticos (neftaleno, fenantreno y pireno) en el crecimiento de maíz y ejotes (Kyung-Hwa *et al.*, 2004) en concentraciones de 10-1000 mg kg⁻¹.

La relación entre los hidrocarburos residuales y las propiedades del suelo, así como su efecto en las plantas es complejo, algunos contaminantes tienen efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas en concentraciones bajas, ya que éstas absorben los compuestos químicos en solución que hacen el papel de nutrientes (Pivetz, 2001). Zhuang *et al.* (2007) demostraron que diversos metales pesados y órgano-contaminantes promueven la síntesis de fitohormonas, las cuales, a su vez, promueven el crecimiento de las plantas por mecanismos aún no dilucidados.

En la longitud de la raíces de maíz, a los 15 días, no se presentaron diferencias significativas ($P < 0.01$) entre el testigo y los diferentes tratamientos (Cuadro 2). Sin embargo, a los 30 días, la longitud de las raíces fue significativamente más grande en el testigo (32 cm) y el tratamiento con concentración de 200 mg kg⁻¹ (26.8 cm), con respecto al tratamiento con 400 mg kg⁻¹ (19 cm) de antraceno en el suelo. Este menor desarrollo radical fue consecuencia de la presencia del antraceno en altas concentraciones en el suelo. Sin embargo, a los 30 días de desarrollo, no se observaron diferencias significativas en cuanto al peso seco de la raíz, entre el testigo (0.3 g) y los tratamientos con antraceno agregado al suelo (200 mg kg⁻¹: 0.3 g; 400 mg kg⁻¹: 0.3 g) (Cuadro 2). Estos resultados indicaron que el crecimiento radical fue predominantemente transversal en los tratamientos con diferentes concentraciones de antraceno. Por su parte, el número de hojas no mostró diferencias significativas entre los testigos y los tratamientos de 200 y 400 mg kg⁻¹ de antraceno agregado al suelo, a los 15 y 30 días de desarrollo del maíz (Cuadro 2).

En el frijol, a los 15 días, la altura de la planta fue significativamente mayor ($P < 0.01$) en el testigo (47.3 cm), con respecto al tratamiento con concentración de 400 mg kg⁻¹ (38.6 cm) de antraceno en el suelo, aunque no se observó diferencia significativa con el tratamiento de 200 mg kg⁻¹ (55.5 cm, Cuadro 3). Sin embargo, a los 30 días, las plantas de los tratamientos con concentraciones de 200 mg kg⁻¹ (66.0 cm) y 400 mg kg⁻¹ (65.0 cm) de antraceno en el suelo, tuvieron significativamente mayor altura que aquella correspondiente al testigo (49.4 cm). En lo que se refiere al peso seco de la planta, a los 15 días de desarrollo, el testigo (0.9 g) fue significativamente mayor que los tratamientos con 200 mg kg⁻¹ (0.4 g) y 400 mg kg⁻¹ (0.2 g) de antraceno en el suelo (Cuadro 3). Sin embargo, la tendencia fue a la inversa a los 30 días de desarrollo, ya que los tratamientos con 200 mg kg⁻¹ (1.9 g)

Cuadro 2. Efecto del antraceno agregado al suelo sobre el crecimiento del maíz a los 15 y 30 días de desarrollo. [n=3] ^(*).

Condición	Período	Planta		Raíz		Número de hojas
		Altura	Peso seco	Longitud	Peso seco	
	días	cm	g	cm	g	
Testigo (maíz sin contaminante)	15	32.2 ± 2.0 d	0.7 ± 0.08 c	14.0 ± 0.5 c	0.2 ± 0.07 a,b	3.7 ± 0.6 b
Testigo (maíz sin contaminante)	30	44.0 ± 6.5 c	1.5 ± 0.17 b	32.0 ± 1.2 a	0.3 ± 0.03 a	4.7 ± 0.6 a
Maíz (200 mg antraceno kg ⁻¹ suelo)	15	28.7 ± 1.6 d	0.6 ± 0.08 c	13.3 ± 2.5 c	0.2 ± 0.02 a,b	4.0 ± 0.0 b
Maíz (200 mg antraceno kg ⁻¹ suelo)	30	54.4 ± 2.6 b	1.9 ± 0.10 b	26.8 ± 3.5 a	0.3 ± 0.02 a	6.0 ± 1.0 a
Maíz (400 mg antraceno kg ⁻¹ suelo)	15	33.7 ± 3.5 d	0.6 ± 0.08 c	13.8 ± 2.5 c	0.1 ± 0.14 b	4.0 ± 0.0 b
Maíz (400 mg antraceno kg ⁻¹ suelo)	30	66.2 ± 2.4 a	5.1 ± 0.01 a	19.0 ± 4.6 b,c	0.3 ± 0.027 a	5.3 ± 0.6 a

† Los valores con letras iguales en cada columna no son estadísticamente diferentes.

y 400 mg kg⁻¹ (2.0 g) de antraceno fueron significativamente mayores al testigo (0.7 g). Esta tendencia también se registró en la altura de la planta (Cuadro 3). Ferrera-Cerrato *et al.* (2007) reportaron resultados diferentes, ellos encontraron que la presencia de combustóleo (en una concentración de 50 000 mg kg⁻¹) redujo significativamente el crecimiento de *Phaseolus coccineus*, después de 90 días en relación a un suelo testigo.

Gunderson *et al.* (2008) encontraron que a concentraciones de 7500 mg kg⁻¹ de hidrocarburos totales del petróleo en un suelo tipo arenoso hubo un incremento del rendimiento en la semilla de soya del 50% en relación a un cultivo en un suelo sin contaminar. En nuestro trabajo se mostró un efecto estimulante del antraceno sobre el crecimiento del frijol, a concentraciones de hasta 400 mg kg⁻¹.

Por otro lado existen evidencias que los hidrocarburos a bajas concentraciones promueven la producción de pequeñas raíces que permite la asimilación de

los contaminantes como nutrientes en las plantas (Gunderson *et al.*, 2008).

La longitud de las raíces del frijol, a los 15 días, presentó valores menores con respecto al testigo (7.2 cm) en las plantas de los tratamientos con concentraciones de 200 mg kg⁻¹ (4.8 cm) y 400 mg kg⁻¹ (4.3 cm) de antraceno en el suelo. Sin embargo, el peso seco de las raíces no fue significativamente diferente entre el testigo (0.5 g) y los tratamientos (concentración: 200 mg kg⁻¹, 0.6 g; 400 mg kg⁻¹, 0.5 g) (Cuadro 3). A los 30 días de desarrollo, las raíces del testigo (longitud: 31.9 cm; peso seco: 1.2 g) no tuvieron diferencias significativas con aquellas del tratamiento con 200 mg kg⁻¹ (longitud: 33.1 cm; peso seco: 1.7 g) de antraceno en suelo. Sin embargo, en el tratamiento con 400 mg kg⁻¹ (longitud: 15.1 cm; peso: 1.6 g) se observaron diferencias significativas en la longitud de la raíz, pero no en su peso (Cuadro 3). Lo anterior fue similar a las tendencias observadas para el caso del maíz.

Respecto al número de hojas, el testigo tuvo mayor número de hojas (11), con respecto a los tratamientos

Cuadro 3. Efecto del antraceno agregado al suelo sobre el crecimiento del frijol a los 15 y 30 días de desarrollo. [n=3] ^(*).

Condición	Período	Planta		Raíz		Número de hojas
		Altura	Peso seco	Longitud	Peso seco	
	Días	cm	g planta ⁻¹	cm	g raíz ⁻¹	
Testigo (frijol sin contaminante)	15	47.3 ± 1.5 b	0.90 ± 0.06 b	7.2 ± 0.2 c	0.5 ± 0.15 b	11.0 ± 1.0 b
Testigo (frijol sin contaminante)	30	49.4 ± 0.8 b	0.70 ± 0.07 b	31.9 ± 1.2 a	1.2 ± 0.21 a	21.3 ± 4.1 a
Frijol (200 mg antraceno kg ⁻¹ suelo)	15	55.5 ± 2.3 b	0.40 ± 0.09 c	4.8 ± 1.0 c	0.6 ± 0.06 b	7.7 ± 0.6 b,c
Frijol (200 mg antraceno kg ⁻¹ suelo)	30	66.0 ± 1.7 a	1.99 ± 0.27 a	33.1 ± 5.4 a	1.7 ± 0.32 a	25.3 ± 4.5 a
Frijol (400 mg antraceno kg ⁻¹ suelo)	15	38.6 ± 4.7 c	0.20 ± 0.07 c	4.3 ± 1.0 c	0.5 ± 0.21 b	4.0 ± 0.0 c
Frijol (400 mg antraceno kg ⁻¹ suelo)	30	65.0 ± 4.4 a	2.0 ± 0.42 a	15.1 ± 0.3 b	1.6 ± 0.32 a	20.7 ± 2.8 a

† Los valores con letras iguales en cada columna no mostraron diferencias significativas ($P < 0.01$).

con 200 mg kg⁻¹ (7.7) y 400 mg kg⁻¹ (4.0) de antraceno en el suelo a los 15 días de tratamiento. Sin embargo, a los 30 días de desarrollo, ya no hubo diferencias significativas en cuanto al número de hojas entre el testigo (21.3) y los tratamientos (200 mg kg⁻¹: 25.3; 400 mg kg⁻¹: 20.7). Es importante resaltar esta recuperación que mostraron las plantas a los 30 días de exposición al antraceno agregado directamente para la experimentación, sugiriendo un proceso de adaptación.

Perspectivas

Los datos obtenidos indicaron que los tratamientos con las concentraciones de 200 mg kg⁻¹ y 400 mg kg⁻¹ de antraceno en el suelo, no fueron tóxicas para el maíz y el frijol a los 30 días de estudio, incluso estimularon su crecimiento de acuerdo con los parámetros estudiados (Cuadros 2 y 3). Los estudios de fitorremediación con plantas de importancia agrícola son de gran interés, ya que en los suelos agrícolas existe gran biodiversidad de microorganismos rizosféricos con alto potencial para la remoción de diversos contaminantes (Caballero-Mellado *et al.*, 2007). Sin embargo, el uso de plantas comestibles para la fitorremediación es poco utilizado porque genera desconfianza sobre el destino final de los productos obtenidos. Aunque en este estudio no se encontró antraceno residual en las raíces del maíz y del frijol, es necesario realizar estudios más amplios sobre el contenido de antraceno en los productos alimenticios obtenidos para garantizar su inocuidad.

CONCLUSIONES

- Las plantas de maíz y el frijol estudiadas tuvieron efecto positivo en la remoción del antraceno agregado al suelo en concentraciones de 200 y 400 mg kg⁻¹. Ambas plantas participaron en la fitorremediación del suelo contaminado, con un nivel de remoción de hasta 84%.
- El antraceno estimuló significativamente el crecimiento de las plantas a los 30 días de desarrolló y con 400 mg kg⁻¹ de antraceno respecto a las plantas testigo.
- Considerando que en México existe amplia experiencia en el cultivo intercalado de maíz y frijol, los resultados de esta investigación abren la posibilidad de utilizar el sistema maíz-frijol como alternativa no alimentaria (obtención de biodiesel) de fitorremediación para la remoción de hidrocarburos contaminantes.

LITERATURA CITADA

- Ayotamuno, J. M. and R. B. Kogbara. 2007. Determining the tolerance level of *Zea mays* (maize) to a crude oil polluted agricultural soil. *African J. Biotechnol.* 6: 1332-1337.
- Caballero-Mellado, J., J. Onofre-Lemus, P. Estrada-de los Santos, and L. Martínez-Aguilar. 2007. The tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing *Burkholderia* species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 5308-5319.
- EPA Method 8270C (Environmental Protection Agency). 1996. Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). Revision 3. Boston, MA, USA.
- Ferrera-Cerrato, R., A. Alarcón, M. R. Mendoza-López, W. Sangabriel, D. Trejo-Aguilar, J. S. Cruz-Sánchez, C. López-Ortiz y J. Delgadillo-Martínez. 2007. Fitorremediación de un suelo contaminado con combustóleo utilizando *Phaseolus coccineus* y fertilización orgánica e inorgánica. *Agrociencia* 41: 817-826.
- Gao, Y. Z., W. T. Ling, L. Z. Zhu, B. W. Zhao, and Q. S. Zheng. 2007. Surfactant-enhanced phytoremediation of soils contaminated with hydrophobic organic contaminants: potential and assessment. *Pedosphere* 17: 409-418.
- García-López, E., J. Zavala-Cruz y D. J. Palma-López. 2006. Caracterización de las comunidades vegetales en un área afectada por derrames de hidrocarburos. *Terra Latinoamericana* 24: 17-26.
- Gunderson, J. J., J. D. Knight, and K. C. J. Van Rees. 2008. Relating hybrid poplar fine root production, soil nutrients and hydrocarbon contamination. *Bioremediation J.* 12:156-167.
- Hamdi, H., S. Benzarti, L. Manusadzianas, I. Aoyama, and N. Jedidi. 2007. Bioaugmentation and bioestimulation effects on PAH dissipation and soil ecotoxicity controlled conditions. *Soil Biol. Biochem.* 39: 1926-1935.
- Kyunh-Hwa, B. K. Hee-Sik, O. Hee-Mock, Y. Byung-Dae, K. Jaisoon, and L. In-Sook. 2004. Effects of crude oil, oil components and bioremediation on plant growth. *J. Environ. Sci. Health Part A* 39: 2465-2472.
- Laor, Y. and M. Rebhun. 2002. Evidence for non-linear binding of PAHs to dissolved humic acids. *Environ. Sci. Technol.* 36: 955-961.
- Lin, H., S. Tao, Q. Zuo, and R. M. Coveney. 2007. Uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons by maize plants. *Environ. Pollut.* 148: 614-619.
- Marques, A. P. G. C., C. Pires, H. Moreira, A. O. S. S. Rangel, and P. M. L. Castro. 2010. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. *Soil Biol. Biochem.* 42: 1229-1235.
- NOM-021-SEMARNAT (Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2000. Especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio muestreo y análisis (www.semarnat.gob.mx/leyesy normas).
- NOM-138-SEMARNAT/SS (Secretaría del medio Ambiente y Recursos Naturales). 2003. Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y las especificaciones para su caracterización y remediación. (www.ordenjuridico.gob.mx/Federal/PE/APF/APC/SEMARNAT/Normas).

- Parrish, Z. D., M. K. Banks, and A. P. Schwab. 2004. Effectiveness of phytoremediation as a secondary treatment for polycyclic aromatics hydrocarbons (PAHs) in composted soil. *Int. J. Phytoremed.* 6: 119-137.
- Pivetz, B. E. 2001. Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites. Technology Innovation Office. Office of Soil Waste and Emergency Response, US EPA. Washington, DC, USA.
- Tang, M., H. Chen, J. C. Huang, and Z. Q. Tian. 2009. AM fungi effects on the growth and physiology of *Zea mays* seedling under diesel stress. *Soil Biol. Biochem.* 41: 936-940.
- Unterbrunner, R., G. Wieshammer, U. Hollender, B. Felderer, M. Wieshammer-Zivkovic, M. Puschenreiter, and W. W. Wenzel. 2007. Plant and fertiliser effects on rhizodegradation of crude oil in two soils with different nutrient status. *Plant Soil* 300: 117-126.
- Wang, Y., M. Xiao, X. Geng, J. Liu, and J. Chen. 2007. Horizontal transfer of genetic determinants for degradation of phenol between the bacteria living in plant and its rhizosphere. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77: 733-739.
- Weigand, H., K. U. Totsche, I. Kögel-Knabner, E. Annweiler, H. H. Richnow, and W. Michaelis. 2002. Fate of anthracene in contaminated soil: transport and biochemical transformation under unsaturated flow conditions. *Eur. J. Soil Sci.* 53: 71-81.
- Yoshitomi, K. J. and J. R. Shann. 2001. Corn (*Zea mays* L.) root exudates and their impact on ¹⁴C-pyrene mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 33: 1769-1776.
- Zhuang, X., J. Chen, H. Shim, and Z. Bai. 2007. New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation. *Environ. Internat.* 33: 406-413.