



Agrociencia  
ISSN: 1405-3195  
agrocien@colpos.mx  
Colegio de Postgraduados  
México

Quiñones, Evangelina E.; Ferrera, Ronald; Gavi, Francisco; Fernández, Luis; Rodríguez, Refugio;  
Alarcón, Alejandro

**Emergencia y crecimiento de maíz en un suelo contaminado con petróleo crudo**

Agrociencia, vol. 37, núm. 6, noviembre-diciembre, 2003, pp. 585-594

Colegio de Postgraduados

Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30237604>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica  
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

# EMERGENCIA Y CRECIMIENTO DE MAÍZ EN UN SUELO CONTAMINADO CON PETRÓLEO CRUDO

## EMERGENCE AND GROWTH OF MAIZE IN A CRUDE OIL POLLUTED SOIL

Evangelina E. Quiñones-Aguilar<sup>1</sup>, Ronald Ferrera-Cerrato<sup>1</sup>, Francisco Gavi-Reyes<sup>1</sup>, Luis Fernández-Linares<sup>2</sup>, Refugio Rodríguez-Vázquez<sup>3</sup> y Alejandro Alarcón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa en Edafología. Instituto de Recursos Naturales. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (ronaldfc@colpos.mx) (eqaguilar@yahoo.com.mx). <sup>2</sup>Instituto Mexicano del Petróleo, México D. F. <sup>3</sup>Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del IPN, México D.F.

### RESUMEN

Algunos suelos agrícolas han sido gravemente afectados por las actividades de la industria petrolera, por lo que es necesario generar tecnologías para su recuperación. La fitorremediación utiliza plantas cuya rizosfera contribuye a detoxicar suelos contaminados por compuestos orgánicos e inorgánicos. Con la finalidad de conocer la capacidad del maíz para emerger y crecer en un suelo contaminado artificialmente con petróleo crudo, se estableció un experimento en invernadero en Montecillo, Estado de México. El experimento tuvo un arreglo factorial (11×4) en un diseño completamente al azar. Los factores y niveles fueron tipo de maíz (10 recolecciones procedentes de Minatitlán, Veracruz, y el híbrido 'Jornalero') y concentración de petróleo en el suelo (0, 15 000, 25 000 y 35 000 mg kg<sup>-1</sup>). Diariamente, a partir del quinto día después de la siembra (DDS), se evaluó el porcentaje de emergencia de las plántulas. Al final del experimento (22 DDS), se evaluó altura de planta, longitud de raíz, volumen radical, peso seco total, índice de crecimiento en longitud de tallo y raíz e índice de acumulación de biomasa seca. La recolección MV08 presentó valores más altos de emergencia en todas las concentraciones de petróleo crudo en el suelo. Respecto al crecimiento de las plantas de maíz, las recolecciones MV06 y MV08 tienen mayor potencial para utilizarse en experimentos en suelos contaminados con petróleo. La concentración de petróleo 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo favoreció el crecimiento de las plántulas de maíz.

**Palabras clave:** *Zea mays* subsp. *mays*., contaminación, hidrocarburos, fitorremediación.

### INTRODUCCIÓN

La contaminación de algunos suelos y acuíferos con petróleo crudo y sus subproductos es un problema mundial, ocasionado por un mal manejo en las actividades de la industria petrolera (Saval, 1995). En México y otros países, algunos suelos agrícolas muestran alteraciones en sus propiedades físicas, químicas y

### ABSTRACT

Some agricultural soils have been severely affected by oil industry activities; therefore, it is necessary to generate technologies for their recuperation. Phytoremediation uses plants whose rhizosphere contributes to the detoxication of soils, polluted by organic and inorganic compounds. In order to know the capacity of maize to emerge and grow in soil, artificially polluted with crude oil, a greenhouse experiment was carried out at Montecillo, State of México. The experiment had a factorial (11×4) arrangement in a completely randomized design. Factors and levels were type of maize (10 collections) from Minatitlán, Veracruz, and the hybrid 'Jornalero', and crude oil concentrations in the soil (0, 15 000, 25 000, and 35 000 mg kg<sup>-1</sup>). From the fifth day after sowing (DAS), the percentage of seedling emergence was evaluated daily. At the end of the experiment (22 DAS), plant height, root length, root volume, total dry weight, indices of stem and root length growth, and index of dry matter accumulation were evaluated. MV08 collection of maize showed higher seedling emergence in all concentrations of crude oil in the soil. Regarding growth of the maize plants, MV06 and MV08 collections have greater potential to be used in experiments with crude oil-polluted soils. A crude oil concentration of 25 000 mg kg<sup>-1</sup> soil favored growth of maize seedlings.

**Key words:** *Zea mays* subsp. *mays*, contamination, hydrocarbons, phytoremediation.

### INTRODUCTION

Pollution in some soils and aquifers through crude oil and its sub-products is a worldwide problem, caused by poor management in oil industry activities (Saval, 1995). In México and other countries, some agricultural soils show alterations in their physical, chemical, and biological properties because of the activities of the oil industry (Anderson *et al.*, 1993; Bregnard *et al.*, 1996; Saval, 1997). There are old records of natural spillage of crude oil; the amount of spilled hydrocarbon is greater than that remaining in the

Recibido: Julio, 2002. Aprobado: Octubre, 2003.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 37: 585-594, 2003.

biológicas causadas por las actividades de la industria petrolera (Anderson *et al.*, 1993; Bregnard *et al.*, 1996; Saval, 1997). Hay registros antiguos de derrames naturales de petróleo crudo; la cantidad de hidrocarburos derramados es mayor que la que permanece en el ambiente, debido a un control natural de esta contaminación. En estudios de la microbiología del petróleo se detectó microorganismos que pueden metabolizar hidrocarburos. Estos microorganismos y su capacidad degradativa desempeñan la función principal dentro de los mecanismos de biorremediación (Garduño *et al.*, 1984).

La biorremediación para restaurar ambientes contaminados involucra microorganismos para degradar o transformar varios tipos de compuestos tóxicos a compuestos menos tóxicos o no tóxicos, logrando la recuperación del sitio dañado. La biorremediación es una de las alternativas más económicas para la restauración de suelos y acuíferos (Saval, 1995). Esta tecnología incluye la fitorremediación, definida como el uso de plantas verdes para la remoción de metales y contaminantes orgánicos en suelos y acuíferos. Su mejor uso es en sitios con contaminación poco profunda y susceptibles a alguna de sus cinco aplicaciones: Fitotransformación, biorremediación en la rizosfera, fitoestabilización, fitoextracción y rizofiltración (Schnoor, 1997). Existen varias especies vegetales con capacidad para crecer en suelos contaminados con hidrocarburos; y participan en la degradación de éstos a través de la rizosfera, región de la raíz, que favorece el crecimiento de varios microorganismos (Ferrera-Cerrato, 1995) e incrementa la biomasa y la actividad microbiana, acelerando los procesos de degradación (Lee y Banks, 1993; Schwab y Banks, 1994). La capacidad de las especies vegetales para la fitorremediación presenta diferencias marcadas (Shann y Boyle, 1994), ya que la capacidad de una planta para estimular la degradación de contaminantes en la rizosfera depende en gran medida de la especie vegetal, la edad y el vigor de las raíces (Walton *et al.*, 1994).

Freedman (1989) menciona que el contacto con el petróleo daña y mata el follaje y algunos tejidos leñosos expuestos. Sin embargo, en muchas especies, no todos los tejidos perennes se dañan hasta el punto de morir y, en muchas ocasiones, la adición de nutrimentos a suelos contaminados puede favorecer el establecimiento de plantas y aumentar las poblaciones rizosféricas. Amadi *et al.* (1993) encontraron que la adición de fuentes orgánicas de nutrimentos a un suelo contaminado con petróleo ( $30\,000\text{ mg kg}^{-1}$ ) benefició el crecimiento del maíz, utilizado en un sistema de fitorremediación. En México, el Estado de Veracruz es uno de los principales productores de petróleo, actividad que contribuye a una mayor contaminación de los suelos. Debido a los problemas de contaminación en suelos agrícolas de Veracruz y otros Estados productores de petróleo, se ha tratado de validar

environment, due to a natural control of this contamination. Studying the microbiology of petroleum, microorganisms capable of metabolizing hydrocarbons, have been detected. These microorganisms and their capacity of degradation carry out the principal function within bioremediation mechanisms (Garduño *et al.*, 1984).

Bioremediation to restore polluted environments involves microorganisms to degrade or transform various types of toxic compounds to less or nontoxic compounds, achieving the recuperation of the damaged site. Bioremediation is one of the most economical alternatives for the restoration of soils and aquifers (Saval, 1995). This technology includes phytoremediation, defined as the use of green plants for the removal of metals and organic contaminants in soils and aquifers. Its best use is at sites with contamination at little depth, susceptible to any of its five applications: phyto-transformation, bioremediation in the rhizosphere, phytostabilization, phytoextraction, and rhizofiltration (Schnoor, 1997). There are several vegetal species capable of growing in soils polluted with hydrocarbons, and they participate in their degradation through the rhizosphere, part of the root, which favors the growth of several microorganisms (Ferrera-Cerrato, 1995) and increases biomass and microbial activity, accelerating degradation processes (Lee and Banks, 1993; Schwab and Banks, 1994). The capability of vegetal species for phytoremediation presents marked differences (Shann and Boyle, 1994), since the capacity of a plant to stimulate the degradation of contaminants in the rhizosphere depends to a great extent on the vegetal species, the age and vigour of the roots (Walton *et al.*, 1994).

Freedman (1989) mentions that the contact with crude oil damages and kills the foliage and some exposed woody tissues. In many species, however, not all the perennial tissues are damaged to the point of dying, and on many occasions, adding nutriments to polluted soils may favor the establishing of plants and increase rhizosphere populations. Amadi *et al.* (1993) found that the addition of organic nutriment sources to a crude oil-contaminated soil ( $30\,000\text{ mg kg}^{-1}$ ) benefited the growth of maize utilized in a phytoremediation system. In México, the State of Veracruz is one of the main producers of petroleum, activity which contributes to a major soil pollution. Due to the problems of pollution in agricultural soils of Veracruz and other oil-producing States, it has been attempted to validate technologies like phytoremediation to solve this problem. In this case, maize was chosen, considering its climatic adaptation and its agricultural importance in oil-producing zones. Maize from the region of Minatitlán, Veracruz, was utilized, where one of the Pemex refineries is located; this is a zone affected by spillage of crude oil and its sub-products. The objective of this research was to know

tecnologías como la fitorremediación para solucionar este problema. En este caso, el maíz se eligió considerando su adaptación climática y su importancia agrícola en zonas productoras de petróleo. Se utilizó maíz de la región de Minatitlán, Veracruz, donde se ubica una de las refinerías de PEMEX; esta es una zona afectada por derrames de petróleo y sus subproductos. El objetivo de esta investigación fue conocer el efecto de un suelo contaminado con petróleo crudo en tres concentraciones en la emergencia y crecimiento de plantas de diez recolecciones de maíz provenientes de varios ejidos de Minatitlán, Veracruz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el invernadero y laboratorio del Área de Microbiología del Suelo, perteneciente al Instituto de Recursos Naturales del Colegio de Postgraduados, ubicado en Montecillo, Estado de México, y comprendió tres etapas: Recolección de semillas de maíz, establecimiento del experimento en invernadero y evaluación de resultados.

### Recolección de las semillas de maíz

Se utilizaron semillas de maíz criollo de la raza "Tuxpeño", recolectadas durante septiembre de 1999 de tres localidades del municipio de Minatitlán, Veracruz: 1) Tres recolecciones (MV01, MV02 y MV03) de Nuevo Atoyac, a una altitud de 20 m, 17° 36' N y 94° 30' O; 2) dos colectas (MV04 y MV05) de 5 de Mayo, a una altitud de 17 m, 17° 48' N y 94° 37' O; 3) cinco colectas (MV06 a MV10) de El Remolino, localizado a 17° 55' N y 94° 32' O, a una altitud de 18 m. Además, se utilizó el híbrido de valles altos 'Jornalero' (JOR) como testigo.

### Establecimiento del experimento

Se empleó suelo de San Salvador Atenco, Estado de México, y la muestra se esterilizó en autoclave a 1.3 kg cm<sup>-2</sup> durante 6 h. La contaminación se realizó mezclando el suelo con su respectiva concentración de petróleo, según el tratamiento, en una charola de peltre con una cuchara para homogeneizar el sustrato. El petróleo utilizado fue una mezcla de petróleos ligeros proveniente de varios pozos de PEMEX, proporcionada por el Instituto Mexicano del Petróleo (IMP).

Se utilizó un arreglo factorial 4×11 en un diseño experimental completamente al azar. Los factores fueron concentración de petróleo en el suelo (0, 15 000, 25 000 y 35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo) y 11 tipos de maíz (MV01 a MV10 y JOR); en total 44 tratamientos y con tres repeticiones. La unidad experimental (UE) fue una hilera de 20 semillas sembradas a 4 cm de profundidad en charolas de plástico de 44×34×15 cm de longitud, anchura y altura. En cada charola se colocaron 4 kg de suelo contaminado o sin contaminar, 11 UE y se formaron cuatro grupos de tres charolas con la misma concentración de petróleo. En cada grupo de charolas se aleatorizaron completamente los 11 tipos de maíz.

the effect of a soil polluted with crude oil in three concentrations on emergence and growth of 10 collections of maize plants coming from several ejidos of Minatitlán, Veracruz.

## MATERIALS AND METHODS

The research was carried out in the greenhouse and the laboratory of the Area of Soil Microbiology belonging to the Institute of Natural Resources of the Colegio de Postgraduados, located at Montecillo, State of México. There were three phases: harvest of maize seeds, establishing of the experiment in the greenhouse, and evaluation of results.

### Collection of maize seeds

Seeds of "criollo" maize of the "Tuxpeño" race were utilized. They were collected during September 1999 at three locations of the municipality of Minatitlán, Veracruz: 1) Three collection (MV01, MV02, and MV03) from Nuevo Atoyac, at 20 m (height), 17° 36' N and 94° 30' W; 2) two collections (MV04 and MV05) from 5 de Mayo, at 17 m, (height), 17° 48' N and 94° 37' W; 3) five collections (MV06 to MV10) from El Remolino, located at 17° 55' N and 94° 32' W, at an altitude of 18 m. Besides, the high valley hybrid Jornalero (JOR) was used as control.

### Establishment of the experiment

Soil from San Salvador Atenco, State of México, was utilized, and the sample was sterilized in autoclave at 1.3 kg cm<sup>-2</sup> during 6 h. The contamination was provoked mixing the soil with its respective concentration of crude oil, according, to treatment in a pewter tray, homogenizing the substratum with a spoon. The petroleum used was a mixture of light oils coming from various Pemex oil wells, provided by the Mexican Institute of Petroleum (IMP).

A factorial arrangement (4×11) was used in a completely random experimental design. The factors were crude oil concentration in the soil (0, 15 000, 25 000, and 35 000 mg kg<sup>-1</sup> soil), and 11 types of maize (MV01-MV10 and JOR); a total of 44 treatments with three repetitions. The experimental unit (UE) was a row of 20 seeds, sown at 4 cm depth in flat plastic cases (trays) of 44×34×15 cm length, width, and height, respectively. In each tray, 4 kg of polluted or non-polluted soil were placed, 11 UE, and four groups of three trays with the same concentration of crude oil were formed. In each group of trays the 11 types of maize were completely randomized.

### Response variables

Emergence (E) was considered when the hypocotyl of maize appeared above the soil, and quantified from the fifth day after sowing (DAS); the harvest was carried out at 22 DAS. Six response variables were evaluated: 1) Height of the aerial part (AP); 2) length of the main root (LR); 3) root volume (VR), determined by

### Variables de respuesta

La emergencia (E) se consideró cuando el hipocótilo del maíz se observaba sobre el suelo y se cuantificó desde el quinto día después de la siembra (DDS); la cosecha se realizó a 22 DDS. Se evaluaron seis variables de respuesta: 1) **Altura de la parte aérea** (AP); 2) **longitud de la raíz principal** (LR); 3) **volumen radical** (VR), determinado mediante el volumen de agua desplazada en probeta; 4) **peso seco total** (PST), a 70 °C en estufa. Se calcularon otras dos variables, a partir de AP-LG y peso seco de follaje (PSF) y raíz (PSR): Índice de crecimiento en longitud ( $ICL=AP/LR$ ) e índice de acumulación de biomasa seca ( $IABPS=PSF/PSR$ ). Estos índices se calcularon para cuantificar el efecto relativo de las concentraciones de petróleo en el crecimiento de las plantas, en relación con su parte aérea y radical, o en acumulación de peso.

Con el modelo de dos factores completamente al azar, se realizaron los análisis de varianza mediante PROC GLM (SAS Institute, 1988). Además, se aplicó una prueba de comparación múltiple de medias Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Dinámica de emergencia

En las Figuras 1a y 1b se observa la variación del porcentaje de emergencia de los once tipos de maíz, en el suelo contaminado (25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo) o no con petróleo. La recolección MV08 presentó el mayor porcentaje de emergencia, desde el día 5 hasta 22 DDS. Para 22 DDS a 0, 15 000, 25 000 y 35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, la emergencia fue 96.7%, 88.3%, 81.7% y 90.0%. Los tipos de maíz MV03, MV04, MV06, MV07, MV09 y JOR también presentaron una emergencia mayor que 40%, pero menor que la de MV08. Estos resultados muestran el potencial que tiene el maíz para crecer en suelos contaminados con petróleo (Amadi *et al.*, 1993; Chaîneau *et al.*, 1997), así como la posibilidad para utilizarse en sistemas de fitorremediación para la recuperación de suelos agrícolas contaminados con petróleo. La respuesta de los once tipos de maíz para el tratamiento con petróleo de 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo fue más uniforme que en las otras concentraciones. Esta respuesta fue muy parecida en todos los tipos de maíz, dado que a 10 DDS, seis de los once tipos presentaron más de 40% de emergencia, mientras que en la mayor concentración (35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo) la emergencia se retrasó, ya que únicamente MV08, a 10 DDS, presentó más de 40% de emergencia y una distribución en el tiempo menos uniforme.

Las concentraciones de petróleo de 25 000 y de 35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo favorecieron una mayor emergencia del maíz, después del testigo sin contaminar. Esto indica que a concentraciones mayores de 15 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, las plantas de maíz germinan y emergen sin

the water volume displaced in a test tube; 4) total dry weight (PST) at 70 °C in an oven. Two more variables were calculated, from AP-LG and foliage (PSF) and root dry weight (PSR): length growth index ( $ICL=AP/LR$ ) and dry biomass accumulation index ( $IABPS=PSF/PSR$ ). These indices were calculated to quantify the relative effect of crude oil concentrations on plant growth with respect to its aerial and root part, or to weight accumulation.

With the model of two completely randomized factors, the analyses of variance were conducted using PROC GLM (SAS Institute, 1988). Besides, Tukey test of multiple comparison of means ( $p \leq 0.05$ ) was applied.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Dynamics of emergence

In Figures 1a and 1b, the variation in emergence percentage of the eleven maize types in crude oil-contaminated (25 000 mg kg<sup>-1</sup>soil) or non-contaminated soil is observed. Collection MV08 presented the highest percentage of emergence from day 5 to 22 (DAS). For 22 DAS at 0, 15 000, 25 000, and 35 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, emergence was 96.7%, 88.3%, 81.7%, and 90.0%. The maize types MV03, MV04, MV06, MV07, MV09, and JOR also presented emergence greater than 40%, but less than that of MV08. These results demonstrate the potential of maize to grow in oil-contaminated soils (Amadi *et al.*, 1993; Chaîneau *et al.*, 1997), as well as the possibility to be used in phytoremediation systems for recovering oil-polluted agricultural soils. The response of the eleven maize types to the treatment with crude oil of 25 000 mg kg<sup>-1</sup>soil was more uniform than with other concentrations. This response was very similar in all the types of maize, since at 10 DAS, six of the eleven types showed more than 40% of emergence, whereas in the highest concentration (35 000 mg kg<sup>-1</sup>soil) the emergence was delayed, since only MV08 had more than 40% emergence at 10 DAS and a less uniform distribution in time.

The oil concentrations of 25 000 and 35 000 mg kg<sup>-1</sup> soil favored greater emergence of maize, after the control without contamination. This indicates that at concentrations higher than 15 000 mg kg<sup>-1</sup>soil, maize plants germinate and emerge without serious problems of toxicity due to crude oil. Germination and emergence (90-100%) of maize seeds in oil-polluted soils (100 000 mg kg<sup>-1</sup>soil) have already been reported (Radwan *et al.*, 1995). Furthermore, Damian (1999) obtained maize germination in soils polluted with diesel fuel, though this diminished as the contaminant concentration in the soil increased. Obviously it is necessary to evaluate the harmful effects that petroleum may cause to the maize plants during their whole life cycle.

graves problemas de toxicidad por el petróleo. La germinación y emergencia (90-100%) de semillas de maíz en suelos contaminados con petróleo (100 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo), ya fue reportada (Radwan *et al.*, 1995). Además, Damián (1999) obtuvo germinación de maíz en suelos contaminados con diesel, aunque ésta disminuyó a medida que aumentó la concentración del contaminante en el suelo. Obviamente, es necesario evaluar los efectos dañinos que puede ocasionar el petróleo a las plantas de maíz, durante todo su ciclo de vida.

### Crecimiento de maíz

#### Factor tipo de maíz

La recolección MV08 superó significativamente a los demás tipos de maíz en E, LR, PSF y PST (Cuadro 1). La mayor AP la alcanzaron JOR (17.2 cm), MV08 (15.31 cm) y MV06 (13.8 cm); en cambio, las colectas MV01 y MV10 presentaron los valores más bajos. Estos resultados muestran que en esta etapa fenológica la respuesta de las plantas está estrechamente relacionada con el vigor de las semillas y sus reservas nutritivas. Lo anterior puede contrastarse con la respuesta del híbrido, el cual presentó una respuesta no diferente al de las mejores recolecciones. Se ha reportado respuestas diferenciales en plantas de una misma especie, incluso en genotipos de una misma especie en suelos contaminados con hidrocarburos (Wiltse *et al.*, 1998).

Los resultados para IABPS e ICL en los once tipos de maíz están en el Cuadro 1. Para IABPS se notan valores superiores a 1 y algunos cercanos a 2, lo cual indica una mayor acumulación de biomasa seca en la parte aérea. Estos resultados muestran el efecto negativo del petróleo en la raíz. Los tipos de maíz MV08 y JOR superaron significativamente a los demás en ICL, aunque la mayoría de éstos presentó valores superiores a 1, excepto MV01 y MV10, con 0.2 y 0.9.

#### Efecto por concentración de petróleo

Las plantas cultivadas en el suelo sin contaminar superaron significativamente a las plantas de los suelos contaminados (15 000, 25 000 y 35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo) en todas las variables (Cuadro 2). En cuanto a las tres concentraciones, los valores para dichas variables no fueron diferentes, excepto para LR, cuyo valor disminuía a medida que aumentaba la concentración de petróleo (Cuadro 2). Este efecto puede atribuirse a que el petróleo formó sobre la raíz una capa hidrofóbica, la cual limitó la absorción de agua y nutrientes. Al respecto, Rivera (2001) encontró una disminución del volumen radical en plantas de pasto alemán (*Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc.) en un suelo contaminado

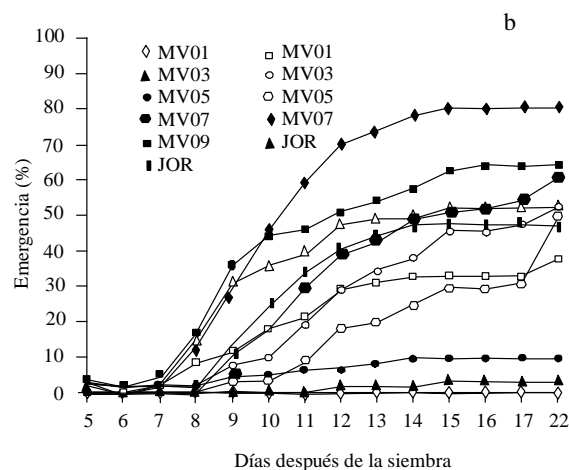
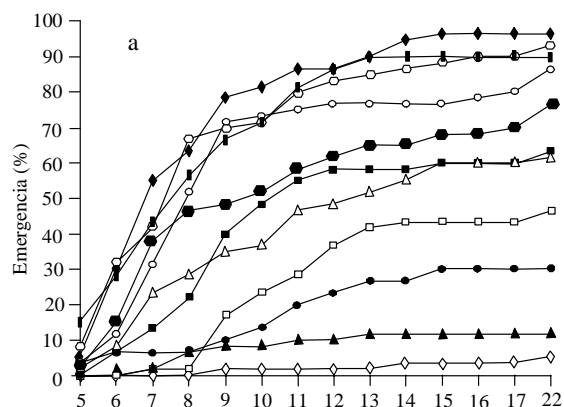


Figura 1. Dinámica de la emergencia de plantas de once tipos de maíz en un suelo contaminado con petróleo a 0 (a) y 25 000 mg kg<sup>-1</sup> (b).

Figure 1. Dynamics of plant emergence of eleven types of maize in soil polluted with crude oil at 0 (a) and 25 000 mg kg<sup>-1</sup> (b).

### Growth of maize

#### Factor: type of maize

Collection MV08 surpassed significantly the other types of maize in E, LR, PSF, and PST (Table 1). The greatest plant height (AP) was reached by JOR (17.2 cm), MV08 (15.31 cm), and MV06 (13.8 cm); however collection MV01 and MV10, showed lowest values. These results show that at this phenological stage, plant response is closely related to seed vigour and nutrient reserves. The aforesaid may be contrasted with the response of the hybrid, which presented a response not different from the best collections. Differential responses in plants of the same species have been recorded, even in genotypes of the same species in soils contaminated with hydrocarbons (Wiltse *et al.*, 1998).

**Cuadro 1. Emergencia (E), altura de planta (AP), longitud de raíz (LR), volumen radical (VR), peso seco total (PST), índice de crecimiento en longitud (ICL) e índice de acumulación de biomasa seca (IABPS) en maíz.****Table 1. Emergence (E), plant height (AP), root length (LR), root volume (VR), total dry weight (PST), index of length growth (ICL), and index of dry biomass accumulation (IABPS) in maize.**

Maíz	E (%)	AP (cm)	LR (cm)	VR (cm <sup>3</sup> )	PST (g)	ICL	IABPS
MV01	1.2 f <sup>†</sup>	2.9 d	3.2 d	0.08 b	0.01 c	0.2 b	0.2 b
MV02	39.5 d	15.2 ab	10.5 ab	0.65 a	0.14 ab	1.6 a	1.6 a
MV03	47.9 cd	13.9 ab	11.0 ab	0.49 a	0.12 ab	1.8 a	1.4 ab
MV04	62.0 bc	13.5 ab	11.1 ab	0.65 a	0.13 ab	1.7 a	1.5 ab
MV05	18.7 e	12.5 bc	8.5 bc	0.50 a	0.10 bc	1.6 a	1.5 ab
MV06	76.6 ab	13.8 ab	11.1 ab	0.60 a	0.14 ab	2.0 a	1.5 ab
MV07	65.8 b	12.8 ab	10.6 ab	0.51 a	0.11 ab	1.5 a	1.4 ab
MV08	89.1 a	15.3 ab	12.8 a	0.68 a	0.16 ab	1.8 a	1.4 ab
MV09	60.8 bc	13.8 ab	10.3 ab	0.58 a	0.13 ab	1.6 a	1.5 ab
MV10	5.0 e	8.2 c	5.7 c	0.12 b	0.04 c	1.1 a	0.9 b
JOR	68.3 b	17.2 a	11.8 ab	0.71 a	0.16 a	1.7 a	1.7 a

<sup>†</sup> Promedios con diferente letra en cada columna, son diferentes (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) ♦ Means with different letter in each column, are different (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

con petróleo crudo, a medida que aumentó la concentración de éste en el suelo. Para el ICL, en el testigo, las plantas tenían una longitud de raíz (0.93) significativamente mayor que los valores de los tres tratamientos con petróleo, (valores mayores que 1).

#### Combinaciones tipo de maíz-concentración de petróleo

Los resultados del análisis para las combinaciones tipo de maíz-concentración de petróleo, están en las Figuras 2a-2e. En MV08, MV06 y JOR se obtuvo un porcentaje de emergencia significativamente mayor a los demás tipos de maíz, incluyendo MV10 en el suelo sin contaminar. Esta respuesta se atribuye a un mayor vigor de las semillas, ya que aparentemente no hubo una influencia negativa del petróleo en éstas. Para suelos contaminados, el mayor valor de emergencia fue en MV08 y el más bajo en MV10 (Figura 2a). Para AP a 0 y 15 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, los tipos de maíz que respondieron mejor fueron MV06, MV08, y JOR; sin embargo, a 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo hubo una mejor respuesta en la mayoría de los tipos de maíz (Figura 2b). La LR disminuyó conforme se incrementó la concentración de petróleo en el suelo: MV08 mostró una LR de 27.39, 10.03, 8.52 y 5.34 cm a 0, 15 000, 25 000, y 35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, lo cual se observó en la mayoría de los tipos de maíz (Figura 2c). Una tendencia similar ocurrió en maíz cultivado en un suelo contaminado con diesel (0, 5000, 10 000, 15 000 y 20 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo): La longitud de raíces disminuyó al aumentar la concentración del contaminante en el suelo; hubo diferencias significativas entre las concentraciones de diesel de 10 000, 15 000 y 20 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo (Damián, 1999).

The results for IABPS and ICL in the eleven types of maize are in Table 1. For IABPS, values superior to 1, and some close to 2, are noticed, which indicates a greater accumulation of dry biomass in the aerial part. These results show the negative effect of crude oil on the root. The maize types MV08 and JOR surpassed significantly the others in ICL, though most of them had values superior to 1, except MV01 and MV10 with 0.2 and 0.9.

#### Effect due to crude oil concentration

The plants cultivated in non-polluted soil surpassed significantly the plants of contaminated soils (15 000, 25 000, and 35 000 mg kg<sup>-1</sup>soil) in all the variables (Table 2). As for the three concentrations, the values for those variables were not different, except for LR, which value diminished as the oil concentration increased (Table 2). This effect can be attributed to the fact that the crude oil formed a hydrophobic layer over the root, which limited absorption of water and nutriment. Regarding this, Rivera (2001) found a decrease of root volume in plants of German grass (*Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc.) in a soil contaminated with crude oil, as its concentration in the soil increased. For ICL, in the control, the plants had a root length (0.93) significantly greater than the values of the three treatments with petroleum, (values above 1).

#### Combinations of maize type-petroleum concentration

The results of the analysis for the combinations of maize type-petroleum concentration are shown in Figures 2a - 2e. In MV08, MV06, and JOR, the percentage of emergence was significantly higher than in the other

**Cuadro 2. Efecto de la concentración de petróleo en el suelo sobre la emergencia (E), altura de planta (AP), longitud de raíz (LR), volumen radical (VR), peso seco total (PST), índice de crecimiento en longitud (ICL), e índice de acumulación de biomasa seca (IABPS) en plantas de maíz (sin considerar recolección).**

**Table 2. Effect of crude oil concentration in the soil on emergence (E), plant height (AP), root length (LR), root volume (VR), total dry weight (PST), index of length growth (ICL), and index of dry biomass accumulation (IABPS) in maize plants (not considering collection).**

Concentración (mg kg <sup>-1</sup> )	E (%)	AP (cm)	LR (cm)	VR (cm <sup>3</sup> )	PST (g)	ICL	IABPS
0	58.7 a <sup>†</sup>	18.9 a	20.7 a	0.94 a	0.17 a	0.93 c	1.38 a
15000	47.8 b	10.9 b	7.0 b	0.37 b	0.10 b	1.33 b	1.63 a
25000	42.3 b	11.0 b	6.0 bc	0.39 b	0.10 b	1.68 a	1.73 a
35000	45.6 b	9.7 b	5.0 c	0.32 b	0.08 b	1.59 ab	1.42 a

<sup>†</sup> Promedios con diferente letra en cada columna, son diferentes (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) ♦ Means with different letter in each column, are different (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

La respuesta en VR de los once tipos de maíz varió en el tratamiento sin petróleo en el suelo; JOR y MV08 presentaron valores significativamente más altos. A 15 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, los valores más altos fueron para MV06 y MV08; a 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, el valor más alto fue para MV08; a 35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, el mayor VR lo tuvo JOR (Figura 2d). En cuanto al PST, el valor más alto en el suelo sin contaminar lo presentaron JOR, MV06 y MV08; en los tratamientos con petróleo de 15 000 y 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo el mayor valor fue para MV08 (Figura 2e). Los resultados de las variables de respuesta indican que las mejores recolecciones por su crecimiento en suelos contaminados con diferentes concentraciones de petróleo, fueron MV08 y MV06.

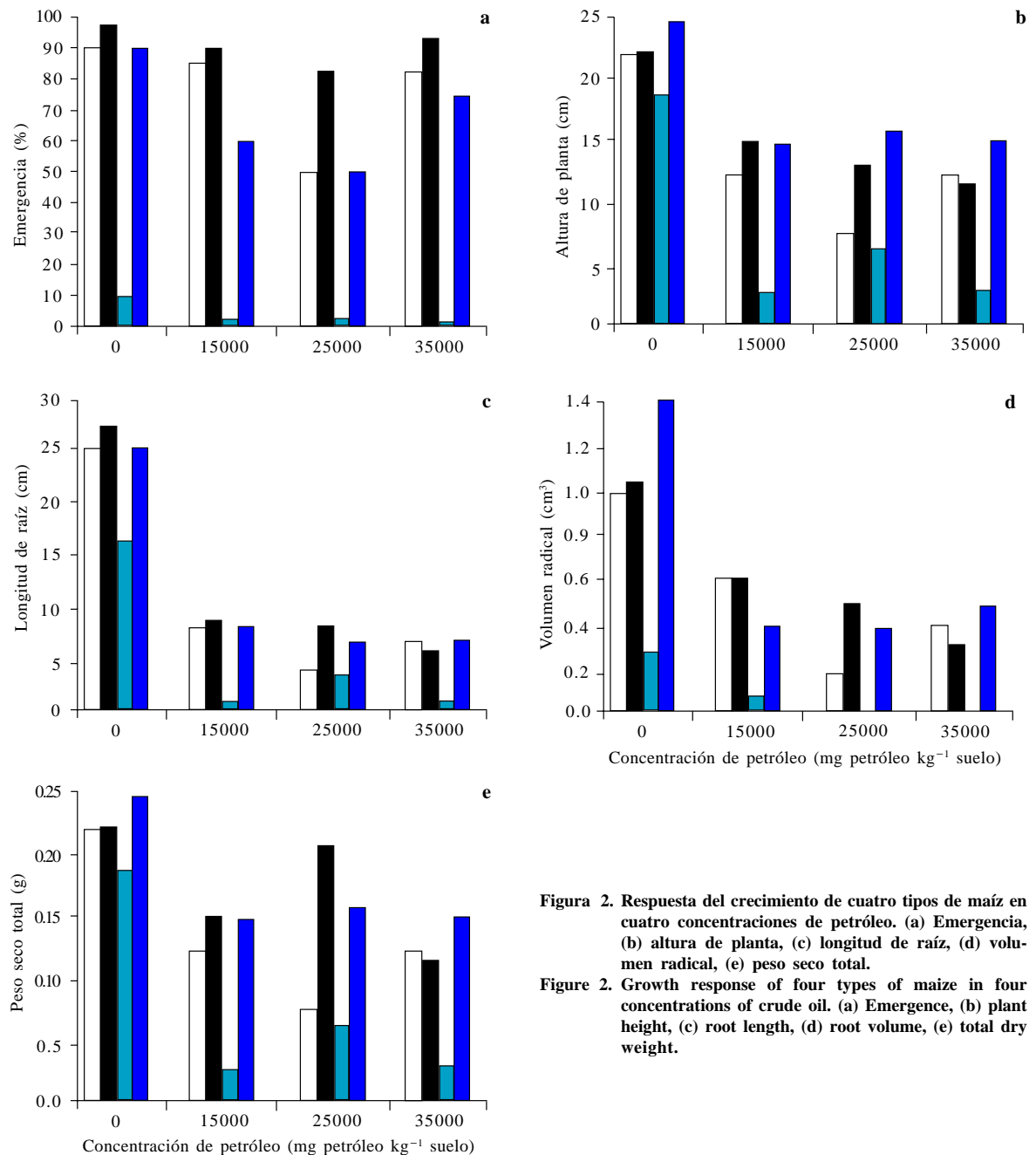
El valor de IABPS, a 0 mg kg<sup>-1</sup> suelo, en la mayoría de los casos fue cercano a 1, lo cual era de esperarse debido a que el suelo no estaba contaminado; esto no sucedió en tratamientos con petróleo. A 15 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, se observan valores desde 1.48 hasta 2.20, lo que señala un mayor PSF que PSR. A 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo los valores van de 0.50 (MV10) a 2.44 (MV06); a 35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo, van de 0.76 (MV05) a 2.22 (MV08). Para el ICL, a 0 mg kg<sup>-1</sup> suelo, se presentaron valores cercanos a 1, lo cual indica que, por tratarse de un suelo sin contaminación, el crecimiento y desarrollo de la raíz fue afectada, en relación con el follaje; incluso, los valores son ligeramente menores que 1. Esto indica una mayor LR y un crecimiento y desarrollo más sano. A 15 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo casi todos los valores fueron relativamente superiores a 1.35, pero ninguno llegó a 2, excepto en MV01 (tratamiento sin plantas al final del experimento por muerte, debido probablemente al menor vigor de dicha recolección). A 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo los valores van de 1.11 a 2.36; a 35 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo la tendencia fue similar. Estos resultados indican que valores superiores a 1 en tratamientos con petróleo en el suelo, muestran un efecto negativo en el crecimiento y desarrollo de la raíz. Sin embargo, se estimula el crecimiento en altura de planta, probablemente como una respuesta al estrés ocasionado por el contaminante en el suelo.

maize types, including MV10 in non-contaminated soil. This response is attributed to a greater seed vigour, since there was apparently no negative influence of oil on them. For polluted soils, the highest value of emergence was in MV08, and the lowest in MV10 (Figure 2a). As for AP at 0 and 15 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, the maize types with the best response were MV06, MV08, and JOR; however, at 25 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, there was a better response in most of the maize types (Figure 2b). LR diminished as the concentration of crude oil in the soil increased: MV08 showed LR of 27.39, 10.03, 8.52, and 5.34 cm at 0, 15 000, 25 000, and 35 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, which was observed in most of the maize types (Figure 2c). A similar trend was found in maize cultivated in soil polluted with diesel fuel (0, 5 000, 10 000, 15 000, and 20 000 mg kg<sup>-1</sup> soil): root length decreased as the contaminant concentration in the soil increased; there were significant differences among diesel fuel concentrations of 10 000, 15 000, and 20 000 mg kg<sup>-1</sup> soil (Damian, 1999).

The response of the eleven maize types in VR varied in the treatment in soil without crude oil; JOR and MV08 presented significantly higher values. At 15 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, the highest values were for MV06 and MV08; at 25 000 mg kg<sup>-1</sup> soil the highest value was for MV08; JOR had the greatest VR at 35 000 mg kg<sup>-1</sup> soil (Figure 2d). As for PST, the highest value in non-contaminated soil were for JOR, MV06, and MV08; in the treatments with oil pollutions of 15 000 and 25 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, the highest value was for MV08 (Figure 2e). The results of the response variables, indicate that the best collections, because of their growth in soil polluted with different concentrations of crude oil, were MV08 and MV06.

The value of IABPS at 0 mg kg<sup>-1</sup> soil was in most cases close to 1, which was expected, as the soil was not polluted; this did not happen in treatments with crude oil. At 15 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, values from 1.48 up to 2.20 were observed, which points to a PSF greater than PSR. At 25 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, the values range from 0.50





**Figura 2.** Respuesta del crecimiento de cuatro tipos de maíz en cuatro concentraciones de petróleo. (a) Emergencia, (b) altura de planta, (c) longitud de raíz, (d) volumen radical, (e) peso seco total.

**Figure 2.** Growth response of four types of maize in four concentrations of crude oil. (a) Emergence, (b) plant height, (c) root length, (d) root volume, (e) total dry weight.

Los tipos de maíz comparados en este estudio tuvieron una respuesta diferencial en emergencia y crecimiento de las plantas en las distintas concentraciones de petróleo en el suelo. Las recolecciones MV06 y MV08 respondieron mejor que las demás; por tanto, plantas de una misma especie pueden crecer de forma diferente en suelos contaminados con petróleo crudo. Entre y dentro de especies vegetales existen diferencias respecto a su potencial en sistemas de fitorremediación (Wiltse *et al.*,

(MV10) to 2.44 (MV06); at 35 000 mg kg<sup>-1</sup>soil, from 0.76 (MV05) to 2.22 (MV08). For ICL, at 0 mg kg<sup>-1</sup>soil, values close to 1 were recorded, which indicates that because it was a non-contaminated soil, root growth and development were affected with relation to the foliage; furthermore values were even slightly below 1. This indicates a greater LR and healthier growth and development. At 15 000 mg kg<sup>-1</sup>soil, almost all the values were relatively superior to 1.35, but none reached

1998). Dichos autores reportaron variación intra-específica en genotipos de alfalfa (*Medicago sativa* L.) al evaluar su crecimiento y capacidad para la recuperación de suelos contaminados con petróleo crudo.

Los tipos de maíz en el suelo sin contaminar y en las tres concentraciones de petróleo en el suelo también tuvieron una respuesta diferencial. Sin embargo, la concentración de petróleo de 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo permitió una mayor emergencia y un mejor crecimiento de las plantas en la mayoría de los tipos de maíz; la recolección MV08 tuvo mejor respuesta a esa concentración. Estos resultados pueden deberse al tipo de petróleo y especie vegetal analizados. Chaîneau *et al.* (1997) reportan que la resistencia de semillas de algunas especies vegetales a la contaminación con petróleo mostró el siguiente decremento: girasol > frijol > trigo > trébol > maíz > cebada > lechuga, y cuando la germinación se dio a concentraciones altas, el sistema radical y la parte aérea disminuyeron. Estos autores también encontraron que la fracción ligera del petróleo redujo significativamente la germinación de las semillas, lo cual pudo deberse a que la entrada del petróleo en las semillas altera las reacciones metabólicas y mata al embrión por toxicidad (Udo y Fayemi, 1975). En este sentido, Amadi *et al.* (1993) mencionan que la inhibición de la germinación está correlacionada con las propiedades hidrofóbicas del petróleo, que impiden y reducen el intercambio entre el agua y gases. Chaîneau *et al.* (1997), en un experimento con girasol (*Helianthus annuus* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.), trébol (*Trifolium repens* L.), maíz (*Zea mays* L.), cebada (*Hordeum vulgare* L.), y lechuga (*Lactuca sativa* L.) en un suelo contaminado con dos tipos de petróleo, encontraron que la germinación de las semillas fue afectada por los hidrocarburos de manera distinta en las diferentes especies; la inhibición del crecimiento de las plantas se incrementó con la concentración de hidrocarburos.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo muestran que las recolecciones con mejor respuesta de emergencia y crecimiento fueron MV06 y MV08. La concentración de petróleo de 25 000 mg kg<sup>-1</sup> suelo permitió un mejor crecimiento y desarrollo, con base en emergencia, altura de planta, longitud de raíz, pesos secos de follaje, raíz, total y valores adecuados de IABPS e ICL para la mayoría de los tipos de maíz utilizados en este estudio, en especial para la colecta MV08.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo formó parte del Proyecto FIES 9709VI del Instituto Mexicano del Petróleo (IMP). El primer autor agradece al

2, except in MV01 (treatment without plants at the end of the experiment, because of death, probably due to less vigour of this collection). At 25 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, values go from 1.11 to 2.36; and at 35 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, the trend was similar. These results show that values higher than 1, in treatments with crude oil in the soil, show a negative effect on root growth and development. Nevertheless, growth with respect to plant height is stimulated, probably as a response to stress caused by the contaminant in the soil.

The types of maize compared in this study had a differential response in emergence and plant growth at different oil concentrations in the soil. Collections MV06 and MV08 responded better than the others; therefore, plants of the same species may grow in a different way in crude oil-polluted soils. Among and within vegetal species there are differences with respect to their potential in phytoremediation systems (Wiltse *et al.*, 1998). The mentioned authors reported inter-specific variation in genotypes of alfalfa (*Medicago sativa* L.), when evaluating their growth and capacity for the recuperation of crude oil-contaminated soils.

The maize types in non-polluted soil and in soils with the three petroleum concentrations also had differential response. The oil concentration of 25 000 mg kg<sup>-1</sup> soil, however, allowed better plant emergence and growth in most of the maize types; collection MV08 had a better response at this concentration. These results may be due to the type of petroleum and the vegetal species analyzed. Chaîneau *et al.* (1997) report that the resistance of the seeds of some vegetal species to crude oil pollution showed the following decrease: sunflower > bean > wheat > clover > maize > barley > lettuce, and when germination occurred at high concentrations, the root system and the aerial part diminished. These authors also found that the light petroleum fraction significantly reduced seed germination, which may be due to the fact that oil entering the seeds alters metabolic reactions and kills the embryo through toxicity (Udo and Fayemi, 1975). Regarding this, Amadi *et al.* (1993) mention that the inhibition of germination is correlated to the hydrophobic properties of crude oil, hindering and reducing the interchange between water and gases. Chaîneau *et al.* (1997) in an experiment with sunflower (*Helianthus annuus* L.), bean (*Phaseolus vulgaris* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.), clover (*Trifolium repens* L.), maize (*Zea mays* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.), and lettuce (*Lactuca sativa* L.) in soil contaminated with two types of petroleum, found that seed germination was differently affected by hydrocarbons in the different species; plant growth inhibition increased with hydrocarbon concentration.

CONACYT y al IMP las becas otorgadas para la realización de estudios de postgrado.

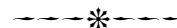
### LITERATURA CITADA

- Amadi A., A. A. Dickson, and G. O. Maate. 1993. Remediation of soils: 1. Effect of organic and inorganic nutrient supplements on the performance of maize (*Zea mays* L). Water, Air and Soil Pollution 66: 59-76.
- Anderson T., A., E. A. Guthrie, and B. T. Walton. 1993. Bioremediation in the rhizosphere. Environmental Sci. Technol. 27: 2630-2636.
- Bregnard T., P. A., P. Hohener, A. Haner, and J. Zeyer. 1996. Degradation of weathered diesel fuel by microorganism from a contaminated aquifer in aerobic and anaerobic microcosms. Environmental Toxicology and Chemistry 15: 299-307.
- Chaineau H., C., J. L. Morel, and J. Oudot. 1997. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons. J. Environ. Quality 26: 1478-1483.
- Damian C., F. 1999. Estudios de ecotoxicidad, biorremediación y fito-biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos (diesel). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F. 53 p.
- Ferrera-Cerrato, R. 1995. Efecto de rizosfera. In: Agromicrobiología: Elemento útil en la agricultura sustentable. Ferrera-Cerrato R. y J. Pérez-Moreno (eds.). Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp: 36-55.
- Freedman, B. 1989. Environmental Ecology. The Impacts of Pollution and other Stresses on Ecosystem Structure and Function. Academic Press. San Diego, CA., USA. 424 p.
- Garduño R., O., P. Salazar M., F. J. Alva T., J. Hebrero R. y G. Etienne B. 1984. Microorganismos para degradar residuos de derrames de petróleo crudo en suelos. Revista del Instituto Mexicano del Petróleo 16:61-77.
- Lee, E. and M. K. Banks. 1993. Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: a microbial study. J. Environ. Sci. Health. Part A. 28: 2187-2198.
- Radwan, S., N. Sorkhoh, and I. El-Nemr. 1995. Oil biodegradation around roots. Nature 376: 302.
- Rivera C., C. 2001. Microorganismos rizosféricos de los pastos alemán (*Echinochloa polystachya* H.B.K. Hitchc) y cabezón (*Paspalum virgatum* L.) en la degradación del petróleo crudo y el Benzo(a)Pireno. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados, IRENAT. Montecillos, México. 348 p.
- SAS Institute. 1988. SAS/STAT User's Guide Release Ver. 6.11. SAS Institute. Cary, NC, USA. 1028 p.
- Saval, S. 1995. Acciones para la remediación de suelos en México. In: Memorias del Segundo Minisimposio Internacional sobre Remoción de Contaminantes de Aguas y Suelos. Instituto de Ingeniería, UNAM. México. pp: 168-173.

### CONCLUSIONS

The results of this work show that the collections with a better response of emergence and growth were MV06 and MV08. The crude oil concentration of 25 000 mg kg<sup>-1</sup> soil allowed better growth and development, based on emergence, plant height, root length, dry weight of foliage and root, total and adequate values of IABPS and ICL, for most of the maize types utilized in this study, especially for sample MV08.

—End of the English version—



- Saval, S. 1997. La biorremediación como alternativa para la limpieza de sitios contaminados con hidrocarburos. In: Seminario Internacional sobre Restauración de Sitios Contaminados. Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAP, Agencia de Cooperación Internacional del Japón, y Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental. México. pp: 18.
- Schnoor J., L. 1997. Phytoremediation. Technology evaluation report. Department of Civil and Environmental Engineering and Center Global and Regional Environmental Research. The University Iowa. Iowa, IA, USA. pp: 1-36.
- Schwab P., A. and M. K. Banks. 1994. Biologically mediated dissipation of polyaromatic hydrocarbons in the root zone. In: ACS Symposium series 563: Bioremediation through rhizosphere technology. Anderson T. A. and J. R. Coats (eds.). American Chemical Society. Washington, DC, USA. pp: 132-141.
- Shann R., J. and J. J. Boyle. 1994. Influence of plant species on *In situ* rhizosphere degradation. In: ACS Symposium series 563: Bioremediation through rhizosphere technology. Anderson T. A. and J. R. Coats (eds.). American Chemical Society. Washington, DC, USA. pp: 70-81.
- Udo, E. J. and A. A. Fayemi. 1975. The effect of oil pollution on germination growth and nutrient uptake of corn. J. Environ. Quality 4: 537-540.
- Walton, T. B., E. A. Guthrie and A. M. Hoylman. 1994. Toxicant degradation in rhizosphere. In: ACS Symposium series 563: Bioremediation through rhizosphere technology. Anderson, T. A. and J. R. Coats (eds.). American Chemical Society. Chicago Illinois, Washington DC, USA. pp: 11-26.
- Wiltse C., C., W. L. Róoney, Z. Chen, A. P. Schwab, and M. K. Banks. 1998. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes. J. Environ. Quality 27: 169-173.