



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

“ACTIVIDAD ENZIMÁTICA RIZOSFÉRICA DE *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth EN SUELO DEGRADADO POR LA CONTAMINACIÓN POR PETRÓLEO, EN LA VENTA, TABASCO”

GENESIS VENTURA MARTÍNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2019



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas
Campeche-Córdoba-Montecillo-Puebla-San Luis Potosí-Tabasco-Veracruz

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe Genesis Ventura Martínez, alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección de la Profesora Dra. María del Carmen Rivera Cruz, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis "Actividad enzimática rizosférica de *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth en suelo degradado por la contaminación por petróleo, en la venta, tabasco" y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, la Consejera o Directora de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

H. Cárdenas, Tabasco, a 14 de junio de 2019.

Genesis Ventura Martínez



Firma



Dra. María del Carmen Rivera Cruz.
Vo. Bo. Directora de Tesis

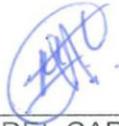
La presente tesis, titulada “ACTIVIDAD ENZIMATICA RIZOSFERICA DE *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth EN SUELO DEGRADADO POR LA CONTAMINACION POR PETROLEO, EN LA VENTA, TABASCO”, realizada por la alumna: Genesis Ventura Martínez, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS

POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:



DRA. MARIA DEL CARMEN RIVERA
CRUZ

ASESOR:



DR. ANGEL SOL SANCHEZ

ASESOR:



DR. PEDRO ANTONIO MOSCOSO
RAMÍREZ

ASESOR:



DR. MIGUEL ANGEL VELAZQUEZ
CARMONA

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO A 27 DE JUNIO DE 2019

La presente tesis titulada **Actividad enzimática rizosférica de *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth en suelo degradado por la contaminación por petróleo en La Venta, Tabasco**, se realizó en el Laboratorio de Microbiología Agrícola y Ambiental, localizado en las instalaciones del *Campus* Tabasco, Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. La tesis fue dirigida por la Dra. María del Carmen Rivera Cruz, Profesora Investigadora Titular del Colegio de Postgraduados *Campus* Tabasco.

El presente estudio fue financiado en su totalidad con cargo a las claves 40018 y 40019, apoyo a investigación científica, que el *Campus* Tabasco Colegio de Postgraduados, asigna a sus profesores investigadores y estudiantes del Programa en Producción Agroalimentaria en el Trópico.

**ACTIVIDAD ENZIMÁTICA RIZOSFÉRICA DE *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth EN
SUELO DEGRADADO POR LA CONTAMINACIÓN POR PETRÓLEO, EN LA VENTA,
TABASCO**

Genesis Ventura Martínez, Mc

Colegio de Postgraduados, 2019

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar una tipología de suelos según la distribución de los contenidos de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) en el rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico de *Laguncularia racemosa* L., conocido como mangle blanco, el efecto de la profundidad y el petróleo en el pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico, fósforo disponible, actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa. Muestras de rizoplano, rizósfera y suelo se recogieron en 30 puntos para medir HTP (mg kg^{-1}) a través de una superficie de 12378.253 m^2 , rizoplano (0-40 cm de profundidad), rizósfera (0-40 cm), capa 1(0-40 cm), capa 2 (41-44 cm) y capa 3 (45-60 cm). La distribución espacial de HTP definió cuatro suelo de estudio (S): S1: 574, S2: 1777, S3:6912, y S4:100849. Los HTP fueron mayores en capas subyacentes de los S3 y S4. El pH fue mayor en capas subyacentes, la conductividad eléctrica en rizoplano y rizósfera, y el pH no fue afectado por el petróleo, pero si la conductividad eléctrica. El rizoplano, rizósfera y no rizosfera capa 0-40 cm, acumuló mayor carbono orgánico, nitrógeno total (NT) y fósforo disponible (PD). El S3 acumuló mayo NT y el PD fue menor en S4 con 100 850 mg de petróleo. La actividad de la ureasa fue estimulada en la no rizósfera capa 3 en los cuatros suelos, y la fosfatasa por rizosplano, pero las dos actividades enzimáticas no fueron estimuladas por el petróleo en comparación con suelo no contaminado. Los resultados sugieren que el rizoplano de mangle *L. racemosa* es sostenible en suelo contaminado por hidrocarburos. Es estimulador de la disponibilidad de nitrógeno y fosfatos que pueden ser utilizados por microorganismos y *L. racemosa* para la atenuación natural de la contaminación por hidrocarburos, con alta actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa en suelos con 6912 y 100 850 mg kg^{-1} de HTP derivado del petróleo crudo degradado. Sin embargo, suelos con concentraciones superiores a 6912 mg kg^{-1} de TPH en capas subyacentes requieren un tratamiento previo a retirar el petróleo del subsuelo y ponerlo en contacto con el rizoplano y rizósfera de mangle.

Palabras claves: actividad enzimática, mangle blanco, contaminación.

**ENZYMATIC RIZOSPHERIC ACTIVITY OF *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth
IN SOIL DEGRADED BY OIL POLLUTION, LA VENTA, TABASCO, MÉXICO**

Genesis Ventura Martínez, Mc

Colegio de Postgraduados, 2019

ABSTRACT

The objective of this study was to determine a soil typology according to the distribution of the contents of total petroleum hydrocarbons (TPH) in the rhizoplane, rhizosphere and non-rhizospheric soil of *Laguncularia racemosa* L., known as white mangrove, the effect of depth and oil in the pH, electrical conductivity, organic carbon, available phosphorus, enzymatic activity of urease and phosphatase. Rhizoplane, rhizosphere and soil samples were collected at 30 points to measure TPH (mg kg^{-1}) through a surface area of 12378.253 m^2 , rhizoplane (0-40 cm depth), rhizosphere (0-40 cm), layer 1 (0-40 cm), layer 2 (41-44 cm) and layer 3 (45-60 cm). The spatial distribution of TPH defined four study soils (S): S1: 574, S2: 1777, S3: 6912, and S4: 100849. The TPH were higher in underlying layers of S3 and S4. The pH was higher in underlying layers, the electrical conductivity in rhizoplane and rhizosphere, and the pH was not affected by the oil, but the electrical conductivity. The rhizoplane, rhizosphere and non-rhizosphere layer 0-40 cm, accumulated higher organic carbon, total nitrogen (NT) and available phosphorus (PD). The S3 accumulation increased NT and the PD was lower in S4 with 100 850 mg of oil. The activity of urease was stimulated in the non-rhizosphere layer 3 in the four soils, and the phosphatase by rhizoplane, but the two enzymatic activities were not stimulated by the oil in comparison with non-contaminated soil. The results suggest that the mangrove rhizoplane *L. racemosa* is sustainable in soil contaminated by hydrocarbons. It stimulates the availability of nitrogen and phosphates that can be used by microorganisms and *L. racemosa* for natural attenuation of hydrocarbon contamination, with high enzymatic activity of urease and phosphatase in soils with 6912 and 100 850 mg kg^{-1} of TPH derived from degraded crude oil. However, soils with concentrations higher than 6912 mg kg^{-1} of TPH in underlying layers require previous treatment to remove the oil from the subsoil and put it in contact with the rhizoplane and mangrove rhizosphere.

Keywords: enzymatic activity, white mangrove, contamination.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización de mis estudios de postgrado, con expediente de beca número 591263/618895.

Al Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas Campus Tabasco por haberme permitido realizar la Maestría en Producción Agroalimentaria en el Trópico.

A la Dra. María del Carmen Rivera Cruz, Profesora Investigadora Titular del Campus Tabasco, Responsable del Laboratorio de Microbiología Agrícola y Ambiental, por brindarme sus conocimientos, por la dedicación y pasión por el trabajo de investigación y sobre todo la paciencia.

A los Doctores. Ángel Sol Sánchez, Pedro Antonio Moscoso Ramírez y Miguel Ángel Velázquez Carmona, profesores integrantes de mi consejo directivo en este trabajo de investigación, gracias por su consejo y apoyo incondicional.

Al M. C. Antonio Trujillo Narcía por su apoyo, dirección y sugerencias en el muestreo realizado en el bosque de manglar.

A la Sra. Darvelia Flores Romero y su familia por abrirme las puertas de su casa y permitir realizar colecta de muestras de suelo y raíz de mangle blanco en su propiedad.

A la Q.F.B. Rícarda Ventura Valenzuela, técnica del área Común Central de Instrumentación Analítica, Laboratorio Central del Campus Tabasco, Colegio de Postgraduados, por su apoyo y enseñanza en el uso del espectrofotómetro UV.

A mis compañeros de generación (primavera 2017-otoño 2018) del PROPAT y estudiantes de servicio social asignados al Laboratorio de Microbiología Agrícola y Ambiental.

DEDICATORIA.



A mí amado dios y a mi madre santísima de Guadalupe, por colmarme siempre de bendiciones y guiar mis pasos para poder llegar hasta este momento.

A mi madre la Sra. Elizabeth Martínez Zapata e hijo Emiliano Ventura Martínez, mis grandes amores, todo esfuerzo igual es suyo, gracias por existir en mi vida, sin ustedes nada soy.

Contenido

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Definición y composición del bosque de manglar.....	4
2.1.1. El suelo del mangle blanco (<i>Laguncularia racemosa</i> (L.) C.F. Gaerth).....	5
2.1.2. Origen y botánica del mangle blanco <i>Laguncularia racemosa</i> (L.) C.F. Gaerth.....	7
2.2. Definición y composición del petróleo crudo.	8
2.2. Composición física y química del petróleo intemperizado	9
2.2.1.1. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos	10
2.2.1.2. Asfáltenos y resinas	10
2.3. Definición y composición del rizoplano y rizosfera.....	11
2.4. El ciclo biogeoquímico del carbono en el suelo en interacción con la planta.	12
2.5. Nitrógeno y fósforo en suelo	14
2.6. Definición e importancia de la actividad enzimática en el suelo	16
2.6.1. Actividad enzimática de la ureasa	17
2.6.2. Actividad enzimática de la fosfatasa	18
2.7. Efecto del petróleo en propiedades químicas del suelo.....	18
2.8. Efecto del petróleo en la actividad enzimática del suelo.....	19
III. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo general	20
3.2. Objetivos Particulares.....	20
IV. HIPÓTESIS	21
4.1. Hipótesis general	21
4.2. Hipótesis particulares	21
V. MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1. Área de estudio y condiciones medioambientales.....	23
5.2. Muestreos de rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico	24
5.3. Hidrocarburos totales del petróleo.....	26
5.4. Clasificación y delimitación del suelo según hidrocarburos totales del petróleo.....	27
5.5. Propiedades químicas de rizoplano, rizosfera y suelo no rizosférico.....	27
5.5.1. Potencial hidrogeno y conductividad eléctrica.....	27
5.5.2. Carbono orgánico total	28

5.5.3. Nitrógeno total.....	29
5.5.4. Fósforo disponible	32
5.6. Actividad enzimática de la ureasa en rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico.....	35
5.7. Actividad enzimática de la fosfatasa en rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico.....	37
5.8. Análisis estadísticos.....	37
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	38
6. 1. Efecto rizoplano, rizosfera de <i>L. racemosa</i> y petróleo en propiedades químicas del suelo	38
6.1.1. Hidrocarburos totales del petróleo.....	38
6.1.2. Potencial hidrogeno y conductividad eléctrica.....	42
6.1.3. Carbono orgánico, nitrógeno y fósforo.....	46
6.1.4. Actividad enzimática	52
VII. CONCLUSIONES	56
VIII. LITERATURA CITADA	57

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 1. Productividad primaria neta de algunos ecosistemas naturales e inducidos por el hombre.....	14
Cuadro 2. Concentraciones de fósforo para curva de calibración.....	33
Cuadro 3. Potencial hidrogeno y conductividad eléctrica según concentración de petróleo intemperizado y profundidad del suelo.	45
Cuadro 4. Efecto de la dosis de petróleo intemperizado y el espacio en la profundidad en el carbono orgánico y nutriente en el bosque de manglar	48
Cuadro 5. Efecto de la dosis de petróleo intemperizado en suelo y el espacio en la profundidad en la actividad enzimática.....	53
Cuadro 6. Pearson´s correlación de hidrocarburos totales del petróleo, espacio en la profundidad, variables químicas y actividad enzimática	54

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Composición del suelo y distribución de las colonias bacterianas.	6
Figura 2. Raíz de <i>Laguncularia racemosa</i> L.	8
Figura 3. Clasificación de los componentes químicos del petróleo intemperizado.	9
Figura 4. Composición de rizósfera y rizoplano.	12
Figura 5. Ciclo del carbono	13
Figura 6. Ciclo biogeoquímico del nitrógeno en el suelo.....	15
Figura 7. Flujoograma del proceso de investigación.....	22
Figura 8. Localización del bosque de manglar <i>Laguncularia racemosa</i> , y distribución de puntos según los niveles de contaminación con petróleo, ejido José Narciso Rovirosa, Huimanguillo, Tabasco.....	24
Figura 9. Muestreo en bosque de mangle blanco; a) ubicación de puntos (planta) de muestreo, b) colecta de rizoplano y rizósfera, y c) colecta de suelo por capas	25
Figura 10. Extracción de hidrocarburos totales del petróleo.....	26
Figura 11. Potencial hidrogeno y conductividad eléctrica; a) Muestras molidas y tamizadas, b) peso de muestra, c) preparación de solución suelo-agua (1:2H ₂ O), y d) lectura con potenciómetro.	28
Figura 12. Carbono orgánico.....	29
Figura 13. Nitrógeno total	31
Figura 14. Fósforo disponible	32
Figura 15. Curva de calibración de fósforo.....	34
Figura 16. Actividad enzimática de la ureasa.....	35
Figura 17. Procedimiento para actividad enzimática de la fosfatasa.....	36

Figura 18. Distribución espacial de hidrocarburos totales del petróleo en el bosque de manglar en cuatro suelos con petróleo intemperizado. 39

I. INTRODUCCIÓN

Los manglares son ecosistemas costeros que se encuentran en zonas tropicales y subtropicales en el planeta, cubren un área de 150,000 km² distribuidos en 123 países (Spalding *et al.*, 1997), en México y el Golfo de México con 775.55 y 87 km² respectivamente (Valderrama *et al.*, 2015). La presencia de hidrocarburos del petróleo en la rizosfera y el suelo del bosque de manglar ha sido reportado por Burns and Codi (1998); Proffitt y Devlin (1998); Duke y Watkinson (2002); Zhang *et al.* (2004); Ke *et al.* (2005); Tam *et al.* (2005); Riverol-Larios *et al.* (2015), Gundlach (2018) en China, Australia, Japón, Kenia, Nigeria, Estados Unidos, región del Mar Caribe, Brasil, Colombia y México, e indican que los hidrocarburos del petróleo llegan al suelo por; arrastre de la capa aceitosa en el agua que entra y sale con la influencia de la marea, y el derrame directo de fugas en oleoductos.

El petróleo degradado (PD) en horizontes superficiales y subsuperficiales del humedal permanece por muchos años en el ecosistema, y genera ambientes hidrofóbicos y anaeróbicos, por sofocación de partículas y bloqueo de la difusión del aire en poros del suelo (Quyum *et al.*, 2002; Labud *et al.*, 2007; Mohsenzadeh *et al.*, 2012; Sutton *et al.*, 2013). Las propiedades recalcitrantes del PD influye negativamente en la mineralización (Porta *et al.*, 2003) y procesos enzimáticos del suelo y la rizosfera. Entre los cambios observados están: el incremento del contenido de carbono orgánicos, pH y conductividad eléctrica; disminuye la cantidad de N total y P disponible en el suelo (Wang *et al.*, 2009); Rivera-Cruz *et al.*, 2012; Shukry *et al.*, 2013; Ying *et al.*, 2013) e incremento de la actividad enzimática rizosférico en suelo con baja contaminación, pero disminuye en alta contaminación con aceite (Pilipović *et al.*, 2014). Las raíces de plantas no logran penetrar los agregados de suelo impregnados con PD, pero lo envuelven logrando extenderse en sitios del suelo con baja contaminación (Rivera-Cruz *et al.*, 2016); Morales-Guzmán *et al.*, 2017). El espesor superficial del Histosol (0-40 cm) y la rizosfera de mangle en condiciones anaeróbicas por tiempos largos, es soportada por material orgánico integrado en mayor proporción de tejido vegetal, y en menor proporción por animales (Das *et al.*, 2012). La respiración de la raíz bajo condiciones anaeróbicas depende de lenticelas ubicadas en neumatóforo que transportan el oxígeno de la atmósfera a las estructuras internas de la raíz (Pezeshki, 2000; Purnobasuki and Suzuki, 2005). El rizosplano y la rizosfera es un microcosmo en donde interaccionan la planta y

los microorganismos, fundamentales en el proceso de la nutrición, degradación del carbono orgánico y en la salud de la planta (Berg y Smalla, 2009). El rizoplano y la rizósfera contienen; exudado, secreciones y grasa. Los exudados incluyen compuestos de peso molecular altos como; mucílago, un material gelatinoso en la superficie de las raíces; y dentro de los compuestos de bajo peso molecular, se encuentran ácidos orgánicos, azúcar, fenólicos simples, aminoácidos, flavonoides e incluso vitaminas. Secreciones que incluyen a carbohidratos poliméricos y enzimas (Holguin *et al.*, 2001; Neumann and Römheld, 2012).

En el rizoplano, rizosfera y suelo los microorganismos son responsables de innumerables procesos que ocurren, por ejemplo la liberación de enzimas (intracelular y extracelular) que son la mediación y catálisis de procesos bioquímicos importantes en la mineralización de nutrientes (N, P y S). Las enzimas extracelulares hidrolasas incluye proteasas, lisozimas, nucleasas, ureasa y fosfatasa que mineralizan a las proteínas, las paredes celulares, ácidos nucleicos y urea (Maier, 2015).

La ureasa y la fosfatasa actúan como enzimas intermedias en la transformación del nitrógeno y el fósforo orgánicos en formas inorgánicas (Pascual *et al.*, 1998). La ureasa (urea amidohidrolasa, E.C 3.5.1.5) cataliza la hidrólisis de la urea a amoníaco y dióxido de carbono. El origen de la ureasa en el suelo es por la liberación de células microbianas vivas y lisadas y se estabiliza como una enzima extracelular por asociación con coloides del suelo (Pinck and Allison 1961), especialmente materia orgánica (McLaren, 1963), pero es afectada por parámetros geoquímicos (Das *et al.*, 2017). La fosfatasa ácida (monoésterfosfato hidrolasas, E.C.3.1.3.2) cataliza la hidrólisis de ésteres y anhídridos de H_3PO_4 (ácido fosfórico), son producidas por microorganismos y plantas superiores, son responsables de la mineralización del fósforo orgánico del suelo y de la liberación del fósforo inorgánico necesario para los microorganismos y las plantas (Speir and Ross, 1978, Tabatabai, 1994).

La ureasa y fosfatasa en su interacción con parámetros químicos, COS pH, C.E, NT y PD, en manglares son importantes para el equilibrio del bosque, debido a la alta acumulación de materiales orgánicos que se depositan en el suelo, rizosplano y rizosfera (Kathiresan and Qasim, 2005; Quirós-Rodríguez *et al.*, 2017). La actividad enzimática y los nutrientes (nitrógeno y fósforo) del suelo y rizosfera en el bosque de manglar son simples, complejas, variables e

influenciada por cambios estacionales periódicos, tasa de sedimentación, nivel de agua, caída de hojas (Das *et al.*, 2017) y la presencia de hidrocarburos derivados de los derrames de petróleo (Duke y Watkinson, 2002; Zhang *et al.*, 2004).

La presente investigación se realizó en el bosque de mangle blanco *L. racemosa* en donde según Orocio (2014) el suelo contiene hidrocarburos totales del petróleo procedentes de derrames antiguos. Estos hidrocarburos rebasan los límites máximos permisibles indicados por la NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 por lo tanto la pregunta de esta investigación fue, ¿En qué medida *L. racemosa* estimula la acumulación de petróleo degradado y es capaz de soportar los cambios químicos y enzimáticos, que le permitan su sostenibilidad en el bosque impactado por la industria petrolera?

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Definición y composición del bosque de manglar

El manglar es definido como un ecosistema forestal, normalmente especies de la familia Rhizophoraceae tolerantes a las sales, asociadas a otros árboles y arbustos que crecen a lo largo de zona con influencia de las mareas, tanto en la costa y más hacia en el interior del continente, bordeando las orillas de los ríos y lagunas, generalmente con suelo inundado la mayor parte del año. Hoy en día, muchos investigadores también usan los términos "marea bosque" y "bosque costero" como sinónimos de bosque de manglar (Aksornkoae, 1993; Hoff *et al.*, 2002).

Las especies de mangles son árboles y arbustos que han evolucionado para adaptarse al ambiente de las zonas intermareales de las costas tropicales y subtropicales del planeta, para lo cual han desarrollado tolerancia a suelos anegados y a la alta salinidad. La distribución, composición y fisonomía de las comunidades de manglar están influenciadas por los cambios latitudinales en la temperatura y la precipitación, pero localmente dependen de la geomorfología, el substrato, la salinidad y la inundación (López y Ezcurra 2002).

Su importancia ecológica reside en las funciones que desempeña en la estabilización y protección de las líneas costeras, proporcionando áreas de cría y alimentación de numerosas especies de peces y crustáceos, y hábitat para cangrejos y moluscos, así como lugares de anidamiento de aves costeras, son un tipo de vegetación característica de las zonas costeras de los trópicos y subtropicos de todo el mundo, en México se encuentran presentes en ambos litorales (Atlántico y Pacífico), cubriendo al menos 60% de la línea costera nacional (Valdarrama *et al.*, 2015).

En el estado de Tabasco las especies de mangle que predominan son; *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo), *Avicennia germinans* L. (mangle negro o mangle prieto), *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaertn (mangle blanco) y *Conocarpus erectus* L. (mangle botoncillo) (Rico-Gray 1981; Benítez *et al.* 2002). Estas especies se encuentran en la NOM-ECOL-059/2001 (DOF, 2001), bajo la categoría de protección especial.

Otras especies vegetales con menos resistencia a la salinidad pueden ser parte de las comunidades de manglares como el zapote (*Manilkara zapota*), la palma tasiste (*Acoelorrhaphe wrightii*), el chechén negro (*Metopium brownei*), palo de agua (*Pachira aquatica*), cuerno de toro (*Acacia cornígera*) y el tucuy (*Phitecellobium lanceolatum*), entre otros (Valderrama *et al.*, 2015).

Entre las trepadoras y epífitas se encuentran bejucos (*Rhabdadenia biflora*, *Dalbergia brownei*), la pitaya (*Selenicereus testudo*), varias especies de bromelias (*Achmaea bracteata*, *Bromelia pinguin* y *Tillandsia* spp.) y orquídeas (*Encyclia cochleata*, *Epidendrum* spp., *Brassavola nosoda* y *Myrmecophila tibicinis*). En el sotobosque viven los helechos de los manglares (*Acrostichum aureum* y *A. danaeaeifolium*, *Elaphoglossum* sp.) y pastos como el zacate salado (*Distichlis spicata*) y el pasto aguja (*Spartina spartinae*) (Valderrama *et al.*, 2015).

2.1.1. El suelo del mangle blanco (*Languncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth)

El suelo, es considerado como un cuerpo natural formado por sólidos (minerales y materia orgánica), líquidos y gases que ocurren sobre la superficie de la tierra, ocupa un espacio y tiene una o ambas de las siguientes características: horizontes o capas que se diferencian del material inicial como resultado de adiciones, pérdidas, transferencia y transformaciones de energía y materia, o por la habilidad de soportar raíces de plantas en un ambiente natural (Soil Survey Staff, 2003). El suelo es un sistema abierto que presenta intercambios de materia y energía con el medio, en donde se desarrollan diversos procesos físicos, químicos y biológicos, responsables de su morfología y propiedades (Bautista y Estrada, 1998). El suelo está integrado según el microbiólogo por material sólido, líquidos y gaseoso (cuarzo, material orgánico, aire, agua) en donde se hospedan colonias de microorganismos formando microbiomasa (Figura 1) (Madigan *et al.*, 2015)

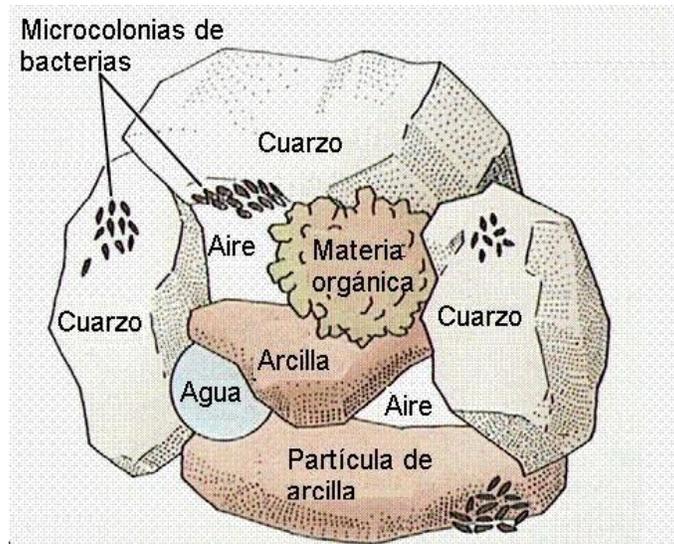


Figura 1. Composición del suelo y distribución de las colonias bacterianas (Madigan *et al.*, 2015).

El suelo del manglar está formado por la acumulación de sedimentos derivados de la erosión costera o ribereña y el suelo erosionado de las zonas más altas que se transporta a través de ríos y canales. Algunos suelos se originaron a partir de partículas coloidales de ríos y sedimento del canal que es fino y fangoso, mientras que el sedimento costero es arena y material orgánico degradado (Aksornkoae, 1993). En el estado de Tabasco México el suelo donde se localiza el mangle blanco ha sido clasificado según las cartas edafológica y de vegetación y uso actual escala 1:500 000, como; Histosol, Solonchaks y Gleysol. Estos suelos se distinguen por contener material orgánico en el horizonte superficial y arcilla en capas subsuperficiales (INEGI, 2001). En Tabasco el mangle blanco se localiza en suelo Histosol, que contiene un pH ácido, salino, sulfuro de hidrogeno, bajo contenido de oxígeno y el color es negro en la superficie, gris oscuro y café en horizonte subsuperficial (Lewis, 2005; Orcio, 2014).

2.1.2. Origen y botánica del mangle blanco *Languncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth

El mangle blanco *Languncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth pertenece a la familia de las Combretaceae del género *Languncularia*, especie *L. racemosa*; es un arbusto o árbol generalmente pequeño, su tronco es recto con ramas ascendentes, copa redondeada y densa se caracteriza por su sistema de raíces de gran tamaño, extendidas y horizontales a partir de las cuales se desarrolla un subsistema de raíces en forma de clavija arriba y debajo de la superficie. Estas raíces tienen forma de maza y en sus cabezas terminales tienen un tejido especial para la ventilación, Tienen además glándulas en las hojas que les permiten secretar el exceso de sal y hojas gruesas, similares a las plantas de desierto, pero de mayor tamaño (Agraz-Hernández *et al.*, 2006; CONABIO-CONANP, 2009). Las glándulas en las hojas se distinguen por una corteza casi lisa a levemente fisurada, café y lenticelada. Las inflorescencias, brácteas florales; cálices y frutos poseen un indumento velutinoso hasta densamente piloso (MAE y FAO 2014).

La raíz del mangle blanco es de tamaño grande, extendido y horizontal a partir de las cuales se desarrolla un subsistema de raíces en forma de clavija arriba y debajo de la superficie. Estas raíces tienen forma de maza y en sus cabezas terminales tienen un tejido especial para la ventilación (CONABIO-CONANP, 2009). Las raíces están modificadas para absorber agua y aire (Figura 2). Las raíces aéreas se relacionan con la oxigenación, exclusión de sal y soporte de individuos (Tomlinson, 2016). Entre los exudados radicales que se han detectado se encuentran los ácidos orgánicos, además de moléculas señal como vanilato, siringato y protocatecuato. Así mismo se ha reportado bacterias en asociación con la rizosfera que brindan al mangle y a otras plantas halófitas asociadas, nutrientes y otras sustancias como reguladores de crecimiento (Holguín, 2001).



Figura 2. Raíz de *Laguncularia racemosa* L.
(Cortesía: María del Carmen Rivera-Cruz, 2018, La Venta, Tabasco)

2.2. Definición y composición del petróleo crudo.

El petróleo crudo natural, es una mezcla compleja que contiene diversos compuestos químicos, agrupados principalmente en cuatro grupos: a) saturados (alcanos o parafinas, y cicloalcanos o naftaleno), b) aromáticos, c) resinas, y d) asfáltenos, con fracciones de nitrógeno, azufre y compuestos que contienen oxígeno (Maletic *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2014). La palabra petróleo proviene del latín “*petroleum*” (*petra*: piedra y *óleum*: aceite), que significa aceite de piedra (Herrerías, 2005), es un compuesto químico formado por carbono (80-87%), hidrógeno (10-5%), azufre (0-10%), nitrógeno (0-1%) y oxígeno (0-5%). Contiene concentraciones bajas de algunos metales pesados (cobre, aluminio, níquel y vanadio). La proporción de los hidrocarburos y los metales es variables según el tipo de petróleo crudo y el lugar de origen (Botello, 2005). El petróleo según el tiempo que permanece en el ambiente puede ser fresco (PF) o intemperizado (PI).

2.2. 1. Composición física y química del petróleo intemperizado

El petróleo intemperizado es aquel que ha estado expuesto a las condiciones ambientales en la superficie del suelo por cierto tiempo para que los hidrocarburos de fracción más ligera se eliminen del suelo, por procesos naturales como volatilización, mineralización (Transformación a CO₂ y agua) y biodegradación de componentes simples (Botello, 1996; Morales, 2017). Sin embargo, aquellos hidrocarburos de fracción pesada o con anillos aromáticos abundantes como los HAP, permanecen y se vuelven recalcitrantes, por ejemplo las fracciones de base aromática de C₆₀ a C₆₆ (Botello, 1996). Según Botello, 2005; Olgún *et al.*, 2007 el petróleo intemperizado está constituido por hidrocarburos saturados ramificados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, asfáltenos y resinas (Figura 3).

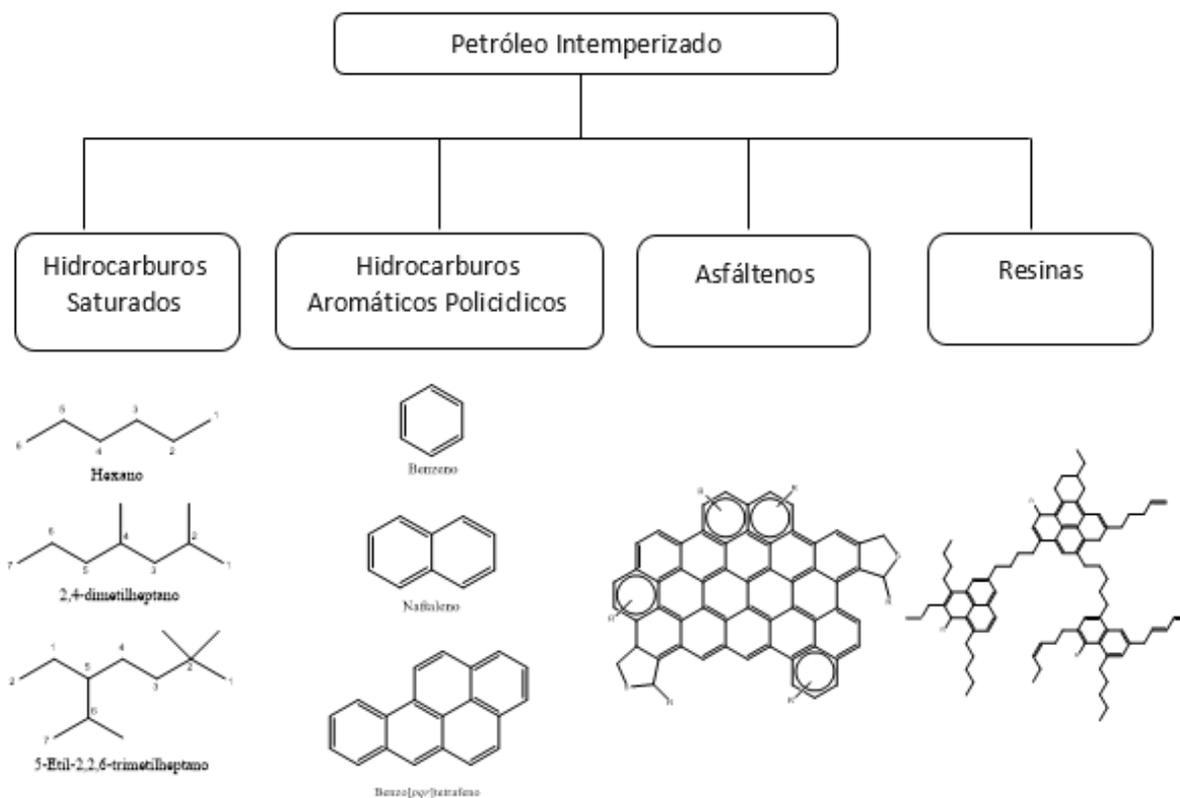


Figura 3. Clasificación de los componentes químicos del petróleo intemperizado (Botello, 2005; Castillo-Rodríguez *et al.*, 2005; Olgún *et al.*, 2007).

2.2.1.1. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son compuestos orgánicos derivados de la combustión de material orgánico, principalmente, contienen al menos dos anillos aromáticos; 16 de ellos son denominados “contaminantes prioritarios” por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos debido a su amplia distribución en el ambiente y por sus propiedades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas (Zhang *et al.*, 2004; Morrillo *et al.*, 2008), Las propiedades físicas y químicas de los hidrocarburos aromáticos policíclicos de bajo peso molecular (dos a tres anillos aromáticos) hacen de ellos candidatos ideales para su dispersión a través de la atmósfera (Daly *et al.*, 2007). En cambio, los hidrocarburos aromáticos policíclicos de mayor peso molecular (cuatro a siete anillos aromáticos), tienen mayor afinidad por el material en forma de partícula como; cenizas y materia orgánica del suelo, siendo más persistentes en el ambiente (Ma *et al.*, 2005; Cai *et al.*, 2008; Maliszewska *et al.*, 2009).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos se clasifican según su origen en: biogénico, petrogénico y pirogénico. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos biogénicos son producto de procesos metabólicos de organismos microscópicos, y microscópicos entre estos las plantas y las termitas donde se ha comprobado que aportan al suelo, naftaleno y perileno (Wilcke *et al.*, 2005). También provienen de la degradación de la materia orgánica en condiciones aerobias y anaerobias que según Wilcke (2007) son la fuente de hidrocarburos aromáticos policíclicos de 4, 5 y 6 anillos debido a que algunos son precursores del humus.

2.2.1.2. Asfáltenos y resinas

Las resinas son moléculas con fuerte carácter aromático, que contiene heteroátomos (N, O, S y a veces Ni y V) y de masa molecular entre 500 y 1,000 uma, están constituidas por compuestos piridínicos, quinolinas, tiofenos, carbazoles, sulfóxidos y aminas y la estructura de los asfáltenos incluyen los agregados de poli aromáticos, fenoles, ácidos grasos, metaloporfirinas, estos hidrocarburos son recalcitrantes, difíciles de degradar, de cadenas complejas, son persistentes en el ambiente degradando la calidad del suelo y el desarrollo normal de las plantas y los microorganismos (Wuaquier, 2004).

Los asfáltenos es la fracción de crudo soluble en tolueno (o benceno) e insoluble en un exceso de n-alcano (pentano o heptano). Los asfáltenos están constituidos principalmente por anillos aromáticos ligados con cadenas alquílicas y ciclo alcanos, además de compuestos heterocíclicos que poseen N, S y O. Estudios recientes muestran que la relación C/H en los asfáltenos está por el orden de 1: 1.1, así mismo aproximadamente el 40% del carbono presente, es aromático (Delgado, 2006).

2.3. Definición y composición del rizoplano y rizósfera

El rizoplano comprende la zona inmediatamente exterior a la epidermis radical o superficie de raíz que está comprendida dentro de la rizósfera. Los compuestos liberados por las raíces de las plantas actúan como atrayentes químicos para un gran número de comunidades microbianas heterogéneas. La composición de estos compuestos depende del estado fisiológico y de las especies de plantas y microorganismos (Brimecombe *et al.*, 2002; Kang *et al.*, 2010). Entre los exudados radicales se localizan; azúcares, proteínas, ácidos orgánicos, aminoácidos, iones inorgánicos, oxígeno y riboflavina, dióxido de carbono, iones bicarbonados, protones, enzimas y etileno etc. (Atlas y Bartha, 2002).

La rizósfera es la fina capa del suelo que se queda adherida al sistema de raíz de las plantas después de sacudirla (Atlas y Bartha, 2002), es la capa de suelo donde crecen los microorganismos por efecto de los exudados radicales y puede medir entre 1 a 2 mm, y según el tipo de suelo, especie de planta, edad y otros factores es el volumen que ocupa la rizósfera en el suelo. Los exudados incluyen carbohidratos, aminoácidos y aminas, ácidos alifáticos, ácidos aromáticos, fenólicos varios, ácidos grasos, esteroides, enzimas y otros, muchos de los cuales poseen actividades y funciones demostradas (Brimecombe *et al.*, 2002).

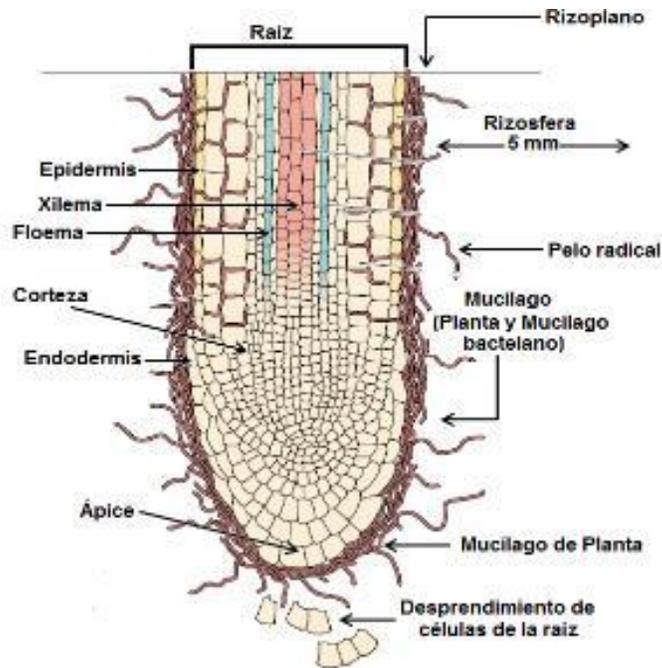


Figura 4. Composición de rizósfera y rizoplasma (Morales, 2013).

2.4. El ciclo biogeoquímico del carbono en el suelo en interacción con la planta

El carbono se cicla entre formas orgánicas como el azúcar u otras estructuras en bloque celular y formas inorgánicas como el dióxido de carbono (CO_2). Se producen fotosintéticamente cantidades de materia orgánica en la tierra cada año utilizando dióxido de carbono de la atmósfera. La mayor parte de este material se consume y degradado, pero una parte de ella, a lo largo de los milenios, ha sido almacenado en permafrost, turberas y como combustibles fósiles. Un delicado balance global de carbono orgánico e inorgánico se ha mantenido en gran parte impulsado por la actividad microbiana (Maier, 2015).

La capacidad de fotosíntesis permite que la energía de la luz del sol quede atrapada y almacenada. En este proceso el dióxido de carbono es fijado en materia orgánica (Figura 5). Los organismos fotosintéticos son llamados productores primarios, incluyen plantas y microorganismos como algas, cianobacterias, algunas bacterias y algunos protozoos (Porta *et al.*, 2003).

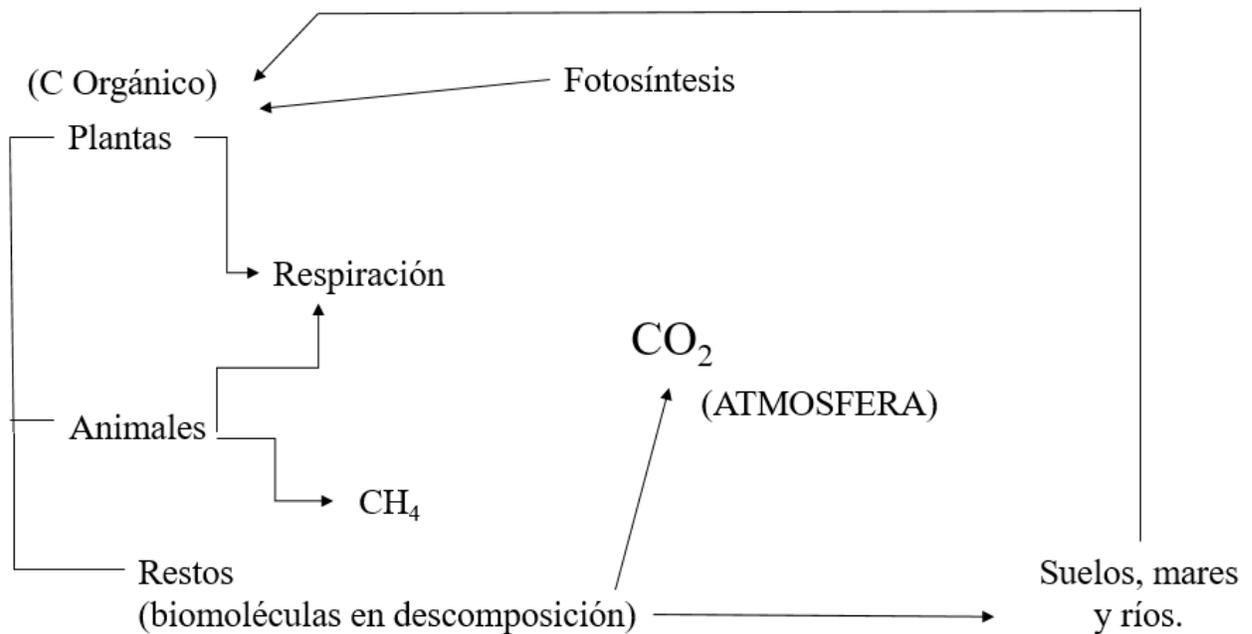


Figura 5. Ciclo del carbono (Porta *et al.*, 2003)

La productividad de carbono varía ampliamente entre los diferentes ecosistemas dependiendo del clima, el tipo de productor primario y administración del sistema (Cuadro 1). Por ejemplo, una de las áreas naturales más productivas de carbono es el bosque tropical lluvioso en donde se ubica el bosque de manglar, produciendo hasta 2800 g materia seca orgánica/m²/año, mientras que el bosque caducifolio templado produce entre 1200 a 1600 (Maier, 2015). Las plantas predominan en ambientes terrestres y zonas costeras, pero en ambientes acuáticos los microorganismos son los responsables de la mayoría de la producción primaria de carbono (Maier, 2015). Los compuestos orgánicos en el suelo de los diferentes ecosistemas terrestres y acuáticos son descompuestos y mineralizados a macronutrientes y micronutrientes (Cerón y Aristizábal, 2012).

Cuadro 1. Productividad primaria neta de algunos ecosistemas naturales e inducidos por el hombre

Descripción de ecosistema	Productividad primaria (g materia seca orgánica/m ² /año)
Tundra	400
Desierto	200
Templada pradera	Hasta 1500
Bosque caducifolio templado	1200-1600
Bosque tropical	Hasta 2800
Pantano de cola de gato	2500
Estanque de agua dulce	950-1500
Océano abierto	100
Agua de mar costero	200
Zona de afloramiento	600
Arrecife de coral	4900
Campo de maíz	1000-6000
Arrozal	240-1200
Campo de caña de azúcar	Hasta 9400

Fuente: Maier, 2015

2.5. Nitrógeno y fósforo en suelo

El nitrógeno (N₂) es un elemento biogénico ya que es un componente esencial de los aminoácidos, proteínas, ácido nucleicos, clorofila, co-enzimas, fitohormonas, vitaminas, alcaloides y metabolitos secundarios; así cualquier bacteria, hongo, plantas superiores o animal no puede crecer y funcionar a menos que asimile nitrógeno en una forma química adecuada. El ciclo del N₂ en el suelo está compuesto por cinco fases: mineralización, nitrificación, desnitrificación, fijación e inmovilización (Figura 6) (INPOFOS, 2003).

El N₂, es un átomo imprescindible para la vida, en la atmosfera se acumula el gas puro del nitrógeno y óxido de nitrógeno estos normalmente vienen de abonos y de quema de combustibles de la industria y este suele transformarse en otras moléculas a menos que sean utilizados para el

metabolismo en algunas bacterias, la molécula de nitrógeno es absorbida por organismos vivos e incorporada en sus células por procesos de fijación (bacterias, hongos y cianobacterias) así la molécula de nitrógeno se convierte en nitrato, disponible para plantas y animales, los desechos que estos expulsan al medio son en forma de ion nitrito y de amoniaco, de este proceso pueden suceder dos fases la de nitrificación (vuelve a plantas y animales) y desnitrificación (vuelve a la atmosfera en forma de molécula N_2). La disponibilidad de N_2 para la raíz y los microorganismos es un factor decisivo para su crecimiento (Hawkesford *et al.*, 2012).

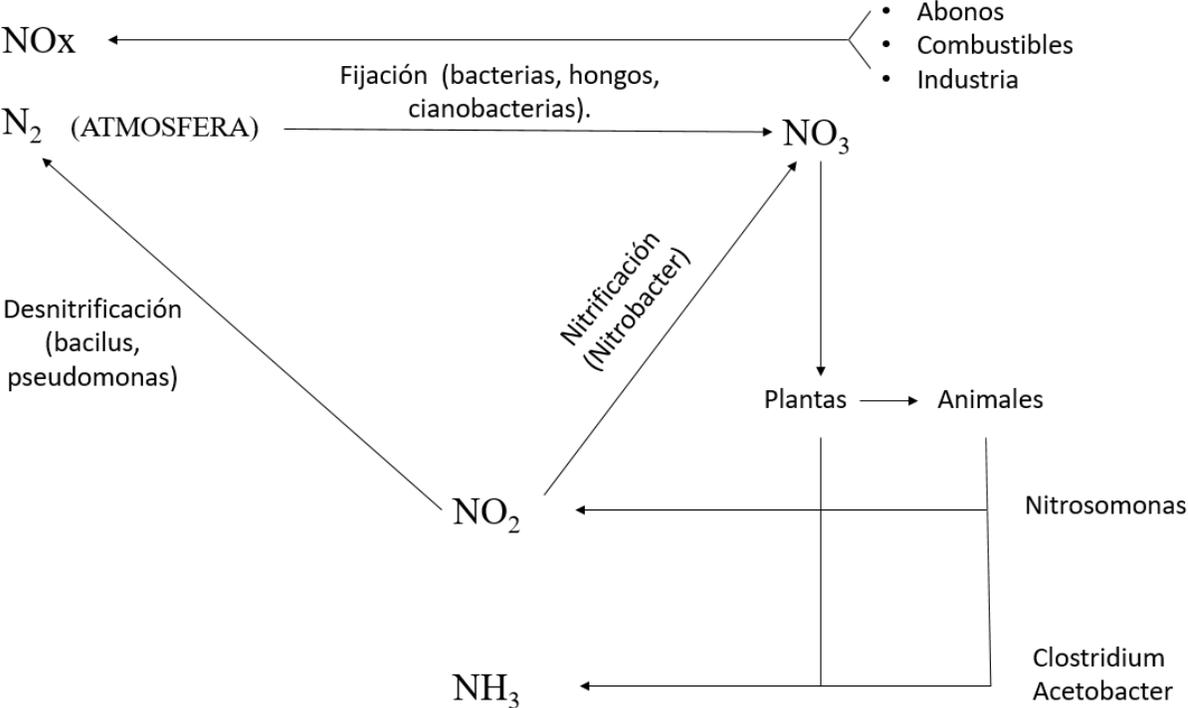


Figura 6. Ciclo biogeoquímico del nitrógeno en el suelo (INPOFOS, 2003).

El fósforo (P) es un elemento biogénico esencial e importante en la fotosíntesis, respiración, almacenamiento y transferencia de energía, la división y crecimiento celular (Deubel y Merbach, 2005). El P en el suelo proviene mayormente de la meteorización de la apatita, un mineral que contiene P, y calcio (Ca), así como otros elementos como flúor (F) y cloro (Cl). A medida que la apatita se descompone se libera P, se forman varios compuestos de este elemento en el suelo y se

liberan los dos iones ortofosfato que son absorbidos por las plantas y sorbidos por los microorganismos. Otras fuentes de fósforo incluyen la materia orgánica, el humus y los microorganismos. Los microorganismos mineralizan los residuos orgánicos (Brady y Weil, 2008). El P elemental es químicamente muy reactivo, y por esta razón no está presente en su estado puro en la naturaleza. Se encuentra solamente en combinación química con otros elementos. El P existe en el suelo y se localiza en tres formas; P orgánico, P inorgánico enlazado a iones de Ca y P inorgánico enlazados a iones de aluminio (Brady y Well, 2008).

El P inorgánico en la solución del suelo está presente en dos formas diferentes: ortofosfato primario (H_2PO_4) y el ortofosfato secundario (HPO_4^{2-}). Estas formas de P en la solución del suelo reaccionan fuertemente con la superficie de las arcillas (minerales secundarios) y otros compuestos. El movimiento del P en el suelo es por difusión, el cual es un proceso lento y de poco alcance que depende de la humedad del suelo. El P se pierde muy poco por lixiviación, aun cuando se mueve más libremente en suelo arenoso que en arcilloso (INPOFOS, 2003).

2.6. Definición e importancia de la actividad enzimática en el suelo

Las enzimas son moléculas proteicas solubles que catalizan las reacciones químicas en los sistemas vivos, actúan sobre sustratos específicos transformándolos en productos necesarios para los ciclos biológicos, son de naturaleza orgánica. Las enzimas en el interior de las células se encuentran en estado coloidal, formando parte del protoplasma y son elaboradas por las células vivas, que actúan independientemente de éstas, tienen poder catalítico específico y se destruyen por el calor húmedo a 100 °C (Acosta y Paolin, 2005).

Las enzimas pueden ser intracelulares y extracelulares se ligan a la pared celular de células vivas de plantas, microflora y microfauna del suelo. Se liberan al suelo por secreción y lisis celular. En el suelo se asocian a sustratos en medio de una reacción enzimática, inmovilizar y estabilizar en interacción con los diferentes componentes de la fase sólida del suelo, como las arcillas, moléculas orgánicas y complejos órgano minerales (Coyne, 2000). La actividad enzimática del suelo es importante porque refleja el estado en el que se encuentran sus poblaciones microbianas y su relación con la biología del suelo, la producción de biomasa, la degradación de contaminantes y la conservación de ecosistemas (Doran, 2002; Gianfreda y Ruggiero, 2006).

Las enzimas ureasa y fosfatasa se han utilizado como indicadores para evaluar el efecto del manejo agronómico sobre características de calidad o estado de sanidad del suelo (Gajda y Mortyniuk, 2005), ofrecen información sobre la capacidad potencial para llevar a cabo reacciones específicas, las cuales son importantes dentro de los ciclos de nutrimentos del C, N, P y S, la mineralización del nitrógeno, el ATP y la respiración del suelo (García, 2008).

La actividad de oxidorreductasas como deshidrogenasa y catalasa pueden ser consideradas como parámetros generales ya que su medida permite tener una idea de los procesos microbianos que se producen en un suelo de manera global sin embargo el grupo de las actividades enzimáticas del tipo hidrolasas como las carbohidrasas, quitinasa, β -glucosidasa, β -galactosidasa del ciclo del C, fosfatasa del ciclo del P, ureasa y proteasa del ciclo del N y arilsulfatasa del ciclo del S, son consideradas como parámetros específicos, pues corresponden a reacciones concretas y dependen de sustratos específicos (Nannipieri *et al.*, 1990).

2.6.1. Actividad enzimática de la ureasa

La ureasa es una enzima ampliamente estudiada en análisis de suelos dado que cataliza la hidrólisis de la urea que es suministrada al suelo como fertilizante o mediante la orina de los animales. La urea se hidroliza produciendo NH_3 y CO_2 , con un consecuente aumento del pH y pérdida de N_2 por volatilización de NH_3 (Tabatabai y Bremner, 1972). La enzima puede ser inhibida en presencia de una fuente preferida de N_2 como el amonio (NH_4^+) y su actividad se induce en presencia de la urea u otra fuente alternativa de N_2 . Es ampliamente utilizada para evaluar los cambios en la composición orgánica del suelo, ya que su actividad se incrementa después de la adición de sustratos orgánica, la reacción de hidrólisis por la ureasa se presenta a continuación: $\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2$ (Piotrowska-Dlugosz y Wilczewski 2014).

De acuerdo con McCarty y Bremner (1991), la producción de la ureasa por los microorganismos del suelo en condiciones anaeróbicas es retardada, aún con la adición de nutrientes disponibles, la actividad enzimática no es inhibida; por el contrario, en condiciones aeróbicas y con disponibilidad de compuestos rápidamente disponibles se incrementa la actividad de la enzima y la actividad microbiana. Además, se ha observado también que la producción de la ureasa disminuye conforme

la relación C: N decrece en el suelo, y se relaciona positivamente con la materia orgánica del suelo y con el contenido de arcilla (Caldwell, 2005).

2.6.2. Actividad enzimática de la fosfatasa

La fosfatasa es una enzima hidrolítica e interviene en la catálisis de los compuestos fosforados orgánicos hacia fósforo inorgánico, el cual es asimilado por las plantas y microorganismos. La disponibilidad del P en el suelo está ligada al reciclaje de los compuestos fosforados presentes en la materia orgánica del suelo (Tabatabai y Bremner, 1969) y a la capacidad de los suelos de adsorberlos a los iones de Fe y Al. El proceso enzimático que vuelve disponible al P para las plantas y microorganismos consiste en la hidrólisis de los enlaces monoéster fosfato y diéster fosfato (Trasar., 2003).

La relación entre el P disponible y la actividad de la enzima en el suelo es compleja, y en suelos con deficiencia del nutriente P la actividad suele inducirse. Es por eso que la actividad de esta enzima en el suelo está en función de la demanda por parte de microorganismos y plantas (Wyszkowska *et al.*, 2005).

2.7. Efecto del petróleo en las propiedades químicas del suelo

Los hidrocarburos del petróleo son compuestos carbonatados potencialmente peligrosos y persistentes en el ambiente, ellos contienen pequeñas cantidades de heteroátomos de oxígeno, nitrógeno, azufre, y cantidades traza de vanadio y níquel (Li *et al.*, 2012) que afectan las propiedades químicas del suelo.

El efecto del petróleo en el Potencial hidrogeno del suelo (pH) ha sido reportado por diversos investigaciones, al respecto Leahy y Colwell (1990); Gong *et al* (2008); Kisic *et al.* (2009); Wang *et al.* (2009) indican que al aumentar la concentración de petróleo en suelo baja el pH. Sin embargo otros investigadores mencionan que el pH incrementa hasta 8.0 en suelo con petróleo respecto al suelo control (Ying *et al.*, 2013).

El contenido de carbono orgánico total (COS) del suelo aumenta en suelo contaminado con petróleo (Ekundayo y Obuekwe, 2000). El suelo con 100% de fluidos de perforación petrolíferos

el contenido de COS incrementa en comparación al suelo control, y estos hallazgos se atribuyen a la composición química de los fluidos (Kisic *et al.*, 2009).

El nitrógeno total según Rivera-Cruz *et al.* (2012) se incrementa respecto al control en suelo con 78 456 mg kg⁻¹ de hidrocarburos totales del petróleo intemperizado, pero es igual al control en suelo con 50 000 y 78 000 mg kg⁻¹ de petróleo fresco. El P disponible incrementa respecto al control en el suelo con 50000 a 78000 mg kg⁻¹ de petróleo fresco.

2.8. Efecto del petróleo en la actividad enzimática

La actividad enzimática en suelo y rizosfera es afectada por la presencia de metales e hidrocarburo derivados del petróleo, según Baran *et al* (2004) tras un derrame de petróleo hay un periodo de estrés y posteriormente, hay un incremento en la intensidad de la respiración, la actividad enzimática, el desarrollo de los microorganismos y la gradual descomposición de los contaminantes.

Existen diferentes resultados del efecto de los hidrocarburos del petróleo en la actividad enzimática del suelo. Algunos investigadores indican un efecto positivo del petróleo sobre la actividad enzimática: Ramírez (2012) reporta que 25 517 mg kg⁻¹ de HTP derivados del petróleo intemperizado estimula la actividad enzimática de la ureasa en un 48.7% respecto al suelo sin petróleo. Arias (2012) encontró un incremento del 97% respecto al control en la actividad enzimática de la ureasa en suelo con 112 142 mg kg⁻¹ de HTP derivado del petróleo intemperizado. Así mismo Garza *et al.* (2008) indica que los HTP estimulan la actividad biológica del suelo, (actividad de la ureasa, fosfatasa y producción de ATP) en donde la ureasa y fosfatasa está directamente relacionada con la concentración de hidrocarburos.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Delimitar suelos con diferentes niveles de hidrocarburos totales del petróleo en el bosque del manglar, para determinar en esos suelos el efecto de rizoplano, rizosfera de *L. racemosa*, suelo no rizosférico, así como los efectos de los niveles de petróleo en las propiedades químicas y enzimáticas.

3.2. Objetivos Particulares

1. Determinar una tipología de suelos según la distribución de los contenidos de hidrocarburos totales del petróleo en el rizoplano, rizósfera de *Laguncularia racemosa* y suelo no rizosférico.
2. Evaluar por espacio en la profundidad y niveles de contaminación del suelo el efecto del rizoplano, rizosfera de *Languncularia racemosa* y suelo no rizosférico en pH, conductividad eléctrica, nitrógeno total, fósforo disponible, actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa.
3. Relación del efecto de los espacios en la profundidad y los niveles de contaminación del suelo con el pH, conductividad eléctrica, nitrógeno total, fósforo disponible, actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa.

IV. HIPÓTESIS

4.1. Hipótesis general

La distribución espacial de los hidrocarburos totales del petróleo en los suelos del bosque de manglar podría depender de la retención del petróleo intemperizado en el rizoplano, rizosfera de *Laguncularia racemosa* y suelo no rizosférico ubicados en el espesor de 0-40, 41-44 y 45-60 cm, así mismo estos espacios y los niveles de contaminación en el suelo afectan a las propiedades químicas y la actividad enzimática.

4.2. Hipótesis particulares

1. La tipología de suelos según los contenidos de hidrocarburos totales del petróleo tendría relación con la acumulación de petróleo intemperizado en el rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico.
2. La combinación del espacio en la profundidad con niveles de hidrocarburos totales del petróleo en el suelo podrían inducir diferencias en el pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico, nitrógeno total, fósforo disponible y actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa.
3. El espacio en la profundidad (rizoplano, rizosfera y suelo no rizosférico) pudieran inducir diferencias en el pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico, nitrógeno total, fósforo disponible y actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa
3. Las dosis de hidrocarburos totales del petróleo en el suelo inducirían diferencias estadísticas en el pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico, nitrógeno total, fósforo disponible y actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología Agrícola y Ambiental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco ubicado en Periférico Carlos A. Molina s/n, km. 3.5, Huimanguillo, Tabasco. El proceso de investigación consistió de tres etapas secuenciales: Etapa I. Trabajo de campo. Etapa II. Trabajo en laboratorio. Etapa III. Análisis estadísticos (Figura 7).

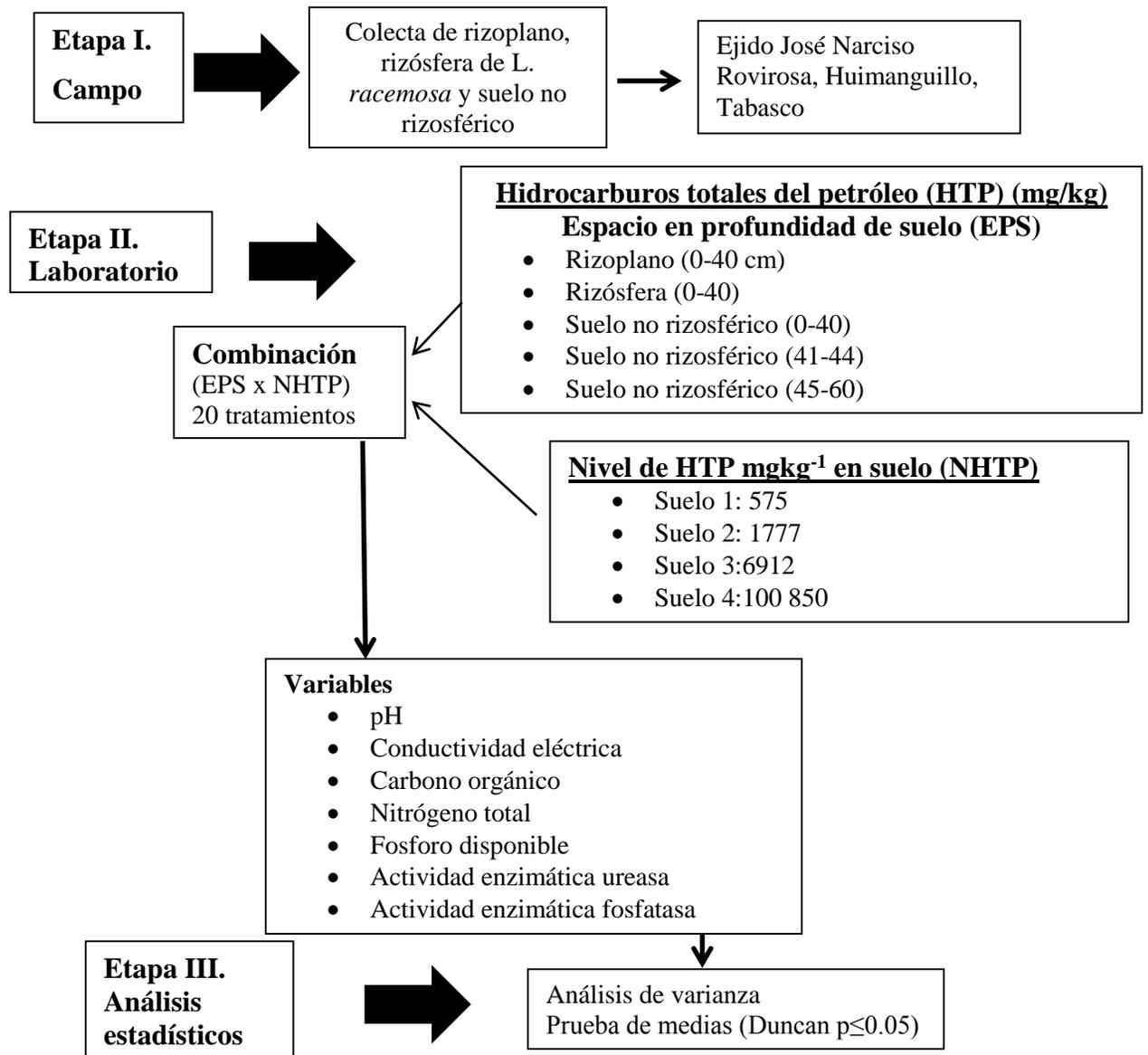


Figura 7. Flujograma del proceso de investigación.

5.1. Área de estudio y condiciones medioambientales

El área de estudio está ubicada en la cuenca baja del Río Tonalá en el sureste de México (Figura 8), a 1.2 km al oeste del Complejo Procesador de Gas La Venta. Las coordenadas UTM del polígono son 388170 a 388300 y 2000320 a 2000380 en Zona 15. El área evaluada abarca 12378.253 m² de un suelo impactado desde 1967 por derrames de petróleo y lodo de perforación del pozo petrolero La Venta 248. En términos taxonómicos el suelo es un Histosol con horizonte superficial fábrico (9.4-0 cm de profundidad), otro hémico (0-40 cm), uno sáprico (41-44 cm) y a mayor profundidad (>44 cm) existe suelo mineral, aparentemente relacionado con el relleno de la construcción del terraplén del pozo petrolero. El Histosol permanece inundado la mayor parte del año, recibe la influencia diaria de la marea desde el Golfo de México, a través del Río Tonalá (Figura 1). El bosque de cuenca cubierto de *Languncularia racemosa* es de origen natural, tiene 14.8 ± 5.8 m de altura, el diámetro promedio del tallo (44.6 ± 19.75 cm) a 1.5 m de altura. El clima es tropical húmedo con lluvias de verano, la precipitación anual acumulada 2024.1 mm, 1169.1 mm de evaporación y la temperatura alcanza un promedio anual de 26.4 °C (Díaz *et al.*, 2006).

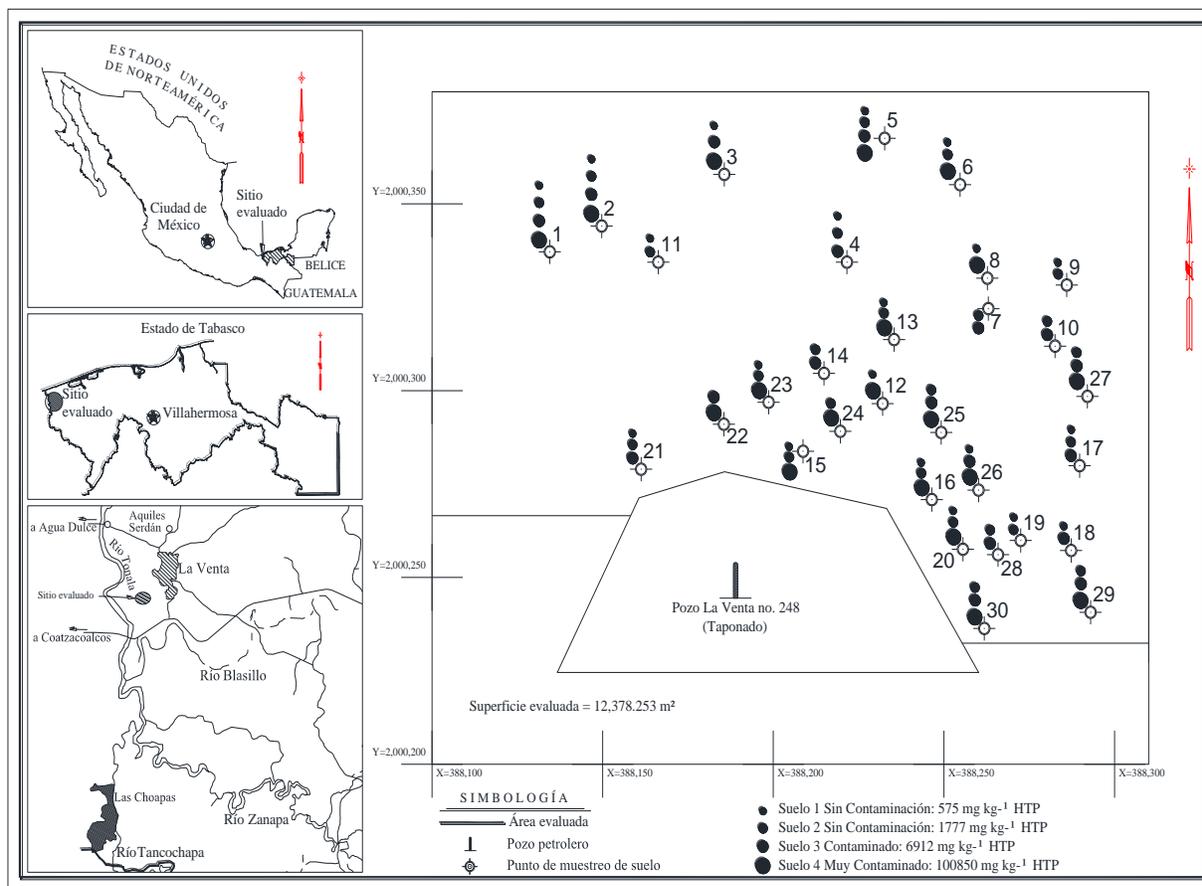


Figura 8. Localización del bosque de manglar *Laguncularia racemosa*, y distribución de puntos según los niveles de contaminación con petróleo, ejido José Narciso Rovirosa, Huimanguillo, Tabasco.

5.2. Muestréos de rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico

El muestreo fue dirigido y estratificado en función de la cantidad visible de petróleo acumulado en el suelo y de la ubicación de la raíz de la planta de mangle. La cantidad visible de petróleo en el suelo se complementó con la intensidad de la iridiscencia observable sobre la superficie de la columna del agua, ambos criterios se usaron para clasificar los contenidos de petróleo degradado (sin, contaminado y muy contaminado) en puntos estudiados *in situ*. Los contenidos en forma de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) se corroboraron en el laboratorio; 30 árboles de mangle

fueron seleccionados distribuidos en 12 378.253 m² del Histosol (Figura 8), se tomaron dos muestras a 50 cm de distancia al norte y sur del tallo de cada árbol, para formar una compuesta por punto. En cada punto se muestreo cinco espacios según la profundidad (EPS): Rizoplano (RP) (0-40 cm), rizosfera (RZ, 0-40 cm), suelo no rizosférico (SNR) [SNR-1 capa 1, 0-40 cm, SNR-2 capa 2, 41-44 cm, y SNR-3 capa 3, 45-60 cm] (Figura 9). Se colectaron muestras compuestas en cada uno de los espacios, se utilizó pala recta, cuchillo esterilizado para cortar RP y RZ; la muestra del SNR se extrajo usando barrena con nucleador cerrado de acero inoxidable. El total de muestras fueron 150: 30 de cada EPS (RP, RZ, SNR-1, SNR-2 y SNR-3), cada muestra se introdujo en un frasco de vidrio de 0.25 kg de capacidad, con tapa de teflón, se etiquetó y se preservó en campo dentro de hielera con hielo. El mismo día de la colecta se transportaron al laboratorio y se preservó a 4 °C.

Las muestras para la determinación de HTP fueron congeladas hasta su procesamiento. Las muestras para características químicas y actividad enzimática se secaron bajo techo, se molieron y tamizaron en malla 2 mm, antes de su procesamiento en laboratorio.



Figura 9. Muestreo en bosque de mangle blanco; a) ubicación de puntos (planta) de muestreo, b) colecta de rizoplano y rizósfera, y c) colecta de suelo por capas.

5.3. Hidrocarburos totales del petróleo

Se utilizaron 10 g de RP, RZ, SNR-1, SNR-2 y SNR-3 para la extracción de hidrocarburos totales del petróleo en equipo soxhlet mediante el método 3540B (USEPA, 1996) (Figura 10). La muestra se acidificó con HCl, después se secó con MgSO₄. El solvente se evaporó durante ocho horas y el peso seco del extracto se cuantificó por gravimetría, usando la formula siguiente:

$$\text{HTP} = (\text{Pi} - \text{Pf} * 1000000) / \text{PS}$$

HTP= Hidrocarburos Totales del Petróleo

(Pi= Peso inicial

Pf= Peso final

PS= Peso del suelo



Figura 10. Extracción de hidrocarburos totales del petróleo. a) Muestras; b) equipo soxtlet para la extracción.

5.4. Clasificación y delimitación del suelo según hidrocarburos totales del petróleo

Se realizó el mapeo de los 12378.253 m² en función de la cantidad de HTP extraído en los EPS. La tipología de suelo con dosis HTP (DHTP) se obtuvo de la combinación punto por EPS (RP, RZ, SNR-1, SNR-2 y SNR-3) que contuviera HTP (mg kg⁻¹) en la dosis uno (0-1000), dos (1001-3000), tres (3001-7000) y cuatro (7001-100900). La dosis uno y dos sin contaminación, bajo el criterio básico de límite máximo permisible establecido en la normativa mexicana para suelo con uso forestal NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2012), el valor máximo permitido es 3000 mg, las dosis mientras tres y cuatro se clasificaron como suelo contaminado. El suelo uno (S1) quedó integrado por muestras colectadas en 21 puntos (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 26) combinados con cinco EPS que contuvieran menores a 1000 mg kg⁻¹ HTP. El S2 integrado por muestras de 21 puntos (1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30). El S3 con muestras de 18 puntos (1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14, 17, 18, 21, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 30) y el S4 con muestras de 18 puntos (1, 2, 3, 5, 6, 8, 12, 13, 15, 16, 20, 22, 23, 24, 25, 27, 29, 30) (Figura 8). Los valores promedios de HTP por punto y EPS definieron cuatro suelos; S1 con 574 ± 103 mg, S2 con 1777 ± 271 mg, el valor del S3 fue 6912 ± 432 mg, y para el S4 aumentó a 100849 ± 1019 mg de HTP (Figura 8). La combinación DHTP (S1, S2, S3 y S4) y EPS (RP, RZ, SNR-1, SNR-2 y SNR-3) integraron 20 tratamientos.

5.5. Propiedades químicas de rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico

5.5.1. Potencial de hidrogeno y conductividad eléctrica

El potencial hidrogeno (pH) y conductividad eléctrica (CE) en RP, RZ y SNR de los cuatro suelos fue determinado en solución 1:2 suelo/agua medido con un potenciómetro y conductímetro (Hanna HI 9811-5). En la Figura 11, se observa la preparación de muestra y uso de equipo para medir pH y CE.

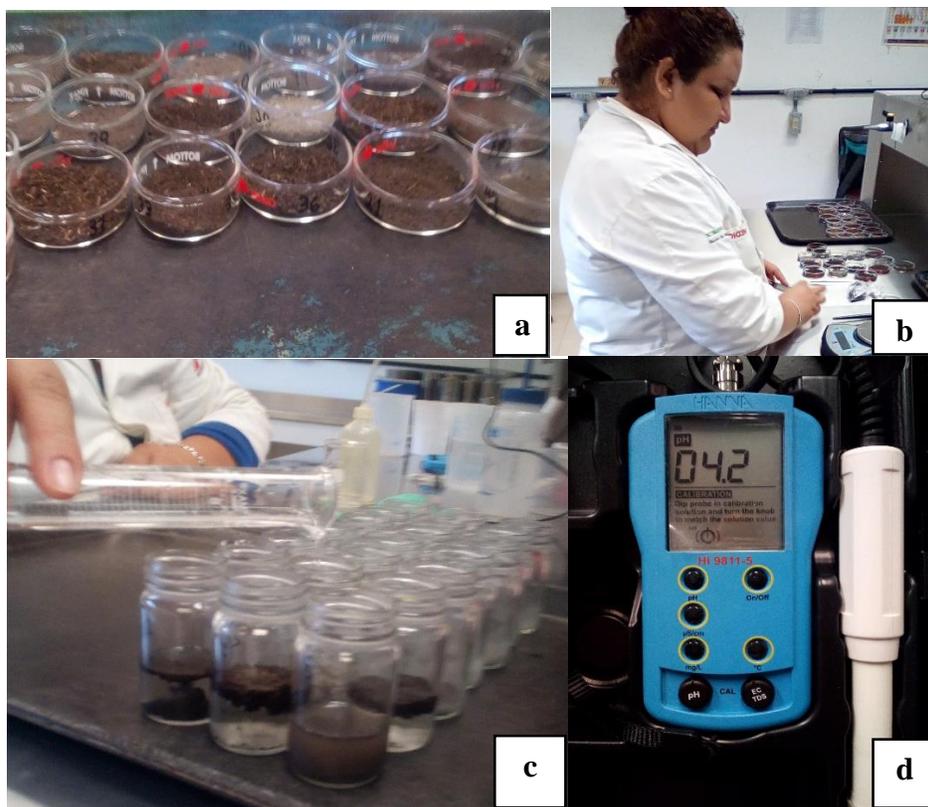


Figura 11. Potencial hidrogeno y conductividad eléctrica; a) Muestras molidas y tamizadas, b) peso de muestra, c) preparación de solución suelo-agua (1:2H₂O), y d) lectura con potenciómetro.

5.5.2. Carbono orgánico total

Carbono orgánico (COS) se evaluó con la técnica de combustión seca establecida por Nelson y Sommers 1982. Las muestras secas y tamizadas se sometieron a sequedad a una temperatura de 105°C, durante 24 horas (Figura 12a). Se pesó 2.5 g. de muestra (peso inicial) en un crisol previamente calibrado. Las muestras para su calcinación se introdujeron en una mufla de marca Novatech (Figura 12 b), y se calibró la temperatura a 375°C durante 24 horas. Se obtuvo el peso final usando una balanza analítica (Figura 12 c).

Los cálculos matemáticos para determinar porcentaje de COS en las muestras de suelos fueron: La materia orgánica se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{MOS} = \frac{\text{PSS} - \text{PSC}}{\text{PSS}} * 100$$

Dónde:

MOS: Materia orgánica del suelo.

PSS: Peso de suelo seco.

PSC: Peso de suelo calcinado

La determinación del porcentaje de COS se realizó de acuerdo a lo que indica Nelson y Sommers (1982), se dividió la materia orgánica entre un factor de conversión de 1.72, basado en la suposición que la MOS contiene el 58% del carbono orgánico.



Figura 12. Carbono orgánico; a) Muestras secas, b) calcinación de muestras, y c) gravimetría de muestras calcinadas.

5.5.3. Nitrógeno total

El nitrógeno total NT se determinó con la técnica de micro-Kjeldahl (Bremner y Mulvaney, 1982). Se trabajó con suelo tamizado pasado por una malla de 2 mm. Se tomó 0.5 g de muestra y se colocó en un tubo Kjeldahl y se adiciono también 1 g de mezcla catalizadora (1 kg de K_2SO_4 , 100 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 10 g de selenio metálico) y 5 mL de H_2SO_4 concentrado.

La muestra se sometió a 340°C durante cinco horas en una unidad digestora colocándole un embudo de cristal. Una vez terminado la digestión, se dejó enfriar durante 30 minutos, se agregó agua para colocar las partículas en suspensión mediante la agitación. Se decantaron las partículas

sílice evitando que se precipitaran los cristales de sulfato de amonio en un matraz de 10 mL aforado. Se colocaron 10 mL de la solución de ácido bórico más indicador en un matraz Erlenmeyer de 125 mL para posteriormente realizar la destilación. Se adicionaron los 10 mL de la muestra en la copa del destilador, se agregó también 10 mL de NaOH y se inició la destilación hasta alcanzar aproximadamente 25 mL. El NT se determinó mediante la titulación con H₂SO₄ 0.05 N, notándose un vire de color verde cristalino aun rosa fuerte (Figura 13f). El resultado se expresó como % de N total.

Fórmula:

$$N (\%) = (V \text{ muestra} - V \text{ blanco}) N \text{ ácido} \times 14 / (\text{muestra}) (10).$$

Dónde:

Volumen del ácido sulfúrico para titular la muestra

Volumen del ácido sulfúrico para titular el blanco

N= Normalidad exacta del ácido sulfúrico

14= Peso mili-equivalente del N (mg)

Muestra= Peso en gramos

10= Factor para convertir en porcentaje (1000/100)



Figura 13. Nitrógeno total; a) Equipo micro-Kjeldahl, b) combustión de muestras a 340 °C, c) Extracto de la muestra aforada para destilar, d) extracto de muestra y ácido bórico con indicador para destilación, e) destilación, y f) titulación de muestras.

5.5.4. Fósforo disponible

La determinación del fósforo disponible se trabajó con el método Olsen para suelos neutros (Olsen and Sommers 1982), el procedimiento fue el siguiente: Se pesan 2.5 gramos de muestra más 0.5 g de carbón activado y se colocó en un matraz Erlenmeyer, se le adiciona 50 mL de solución extractora (bicarbonato de sodio al 0.5 M, se pesa 42g de Na HCO_3 y se disuelven en 900 ml de agua, se ajusta el pH a 8.5), posteriormente se sometió a agitación durante 30 min a 180 rpm, una vez transcurrido el tiempo se filtra y del filtrado se toma una alícuota de 10 ml y se colocó en un matraz de 100 mL adicionándole agua y 10 mL de solución reductora y se afora, para leer a una absorbancia de 882 nm usando un espectrofotómetro de UV-visible figura 14.

Fórmula:

$$P \text{ (ppm)} = \text{ppm en CC} \times \text{DM} \times \text{DV}$$

Ppm en CC= partes por millón en la curva de calibración

DM= dilución de masa (volumen del extractante, 1 g de muestra)

DV= dilución de volumen (afore/alícuota)

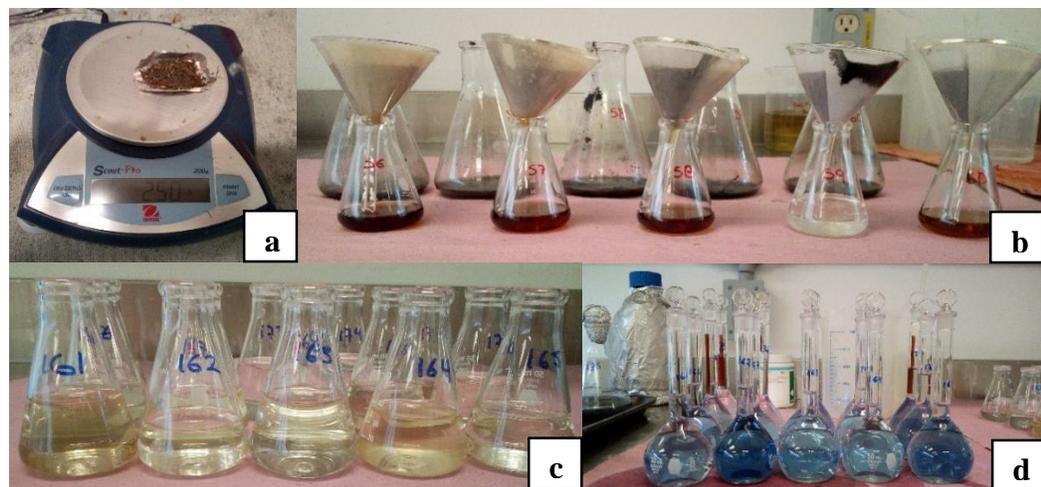


Figura 14. Fósforo disponible; a) peso de muestra, b) filtrado de extracto, c) extracto filtrado; y d) desarrollo de color para lectura en espectrofotómetro.

La curva de calibración para fósforo se realizó usando siete concentraciones de solución de P disuelta en solución extractante, agua y ácido ascórbico, como se indica a continuación:

Cuadro 2. Concentraciones de fosforo para curva de calibración

Solución P 5ppm	Solución extractante mL	Agua mL	Ácido ascórbico mL	P ppm
0	5 o 10	40	5	0
1	5 o 10	39	5	0.1
2	5 o 10	38	5	0.2
4	5 o 10	35	5	0.4
6	5 o 10	34	5	0.6
8	5 o 10	32	5	0.8
10	5 o 10	30	5	1.0

Se prepararon las disoluciones para realizar la curva de calibración, en matraz de 50 mL, en las diferentes concentraciones de ppm de fosforo, cada matraz se enumeró con el volumen de fosforo que se utilizó. Colocando las soluciones en el siguiente orden, ppm de fósforo, solución extractora de NaHCO_3 , agua desionizada, ácido ascórbico, aforar con agua desionizada. Se utiliza un blanco que no contenga ppm de fósforo.

Una vez listas las muestras se dejó desarrollar la reacción, las muestras tomaron un color amarillento y posteriormente cambiaron a un color azul, la intensidad de color varía según las ppm de fosforo que estas contenían (Figura 15). Se dejó reposar y se midieron después de 30' pero no más de una hora a 882 nm.



Figura 15. Curva de calibración de fósforo.

5.6. Actividad enzimática de ureasa en rizosplano, rizosfera y suelo no rizosférico

A las muestras secas y tamizadas de RP, RZ y SNR en los S1, S2, S3 y S4 se les determinó la actividad enzimática de la ureasa (AEU). La AEU con la liberación de amonio después de la incubación, con una disolución de urea a 37°C durante 90 minutos, se usó tampón fosfato 0.1 M, pH 7.0, KCl 2 M y NaOH 10 M. La cuantificación por colorimetría a una absorbancia de 660 nm (Sastre y Lobo, 2003). La AEP ácida o fosfomonoesterasa se determinó por espectrofotométrica a 398 nm del *p*-nitrofenol liberado cuando el suelo es incubado a 37°C durante 1 hora con una disolución tamponada de *p*-nitrofenilfosfato (Trasar *et al.*, 2003).

Se pesó una muestra de 0.5 g y se agregaron 2 ml de solución tampón fosfato pH 7 y 0.5 ml de urea (99.7% de pureza), estas se colocaron en baño maría durante 1.30 h a 30°C (Figura 16d) transcurrido el tiempo se sacaron del baño maría y se suministraron 7.5 mL de agua desionizada a las muestras y 8 mL a los controles y a los blancos, posteriormente fueron centrifugados durante 8 minutos a 3 400 rpm, se tomó 1mL del sobrenadante de cada muestra y se agregaron a estos 5.8 mL de agua desionizada, 0.8 mL de citrato sódico (99% pureza) y 1.6 ml de mezcla de sollicitato sódico (99.5% de pureza) más nitroprusiato sódico (99% de pureza), 0.8 ml de mezcla de dicloro isocianomurato (98% pureza) e hidróxido de sodio (97% pureza), una vez listo el lote se dejó reposar en la oscuridad durante 45 minutos para dejar que la reacción se desarrollara, transcurrido

este tiempo se procedió a medir la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 690 nm usando un espectrofotómetro, marca GENESYS 10S UV-Vis.

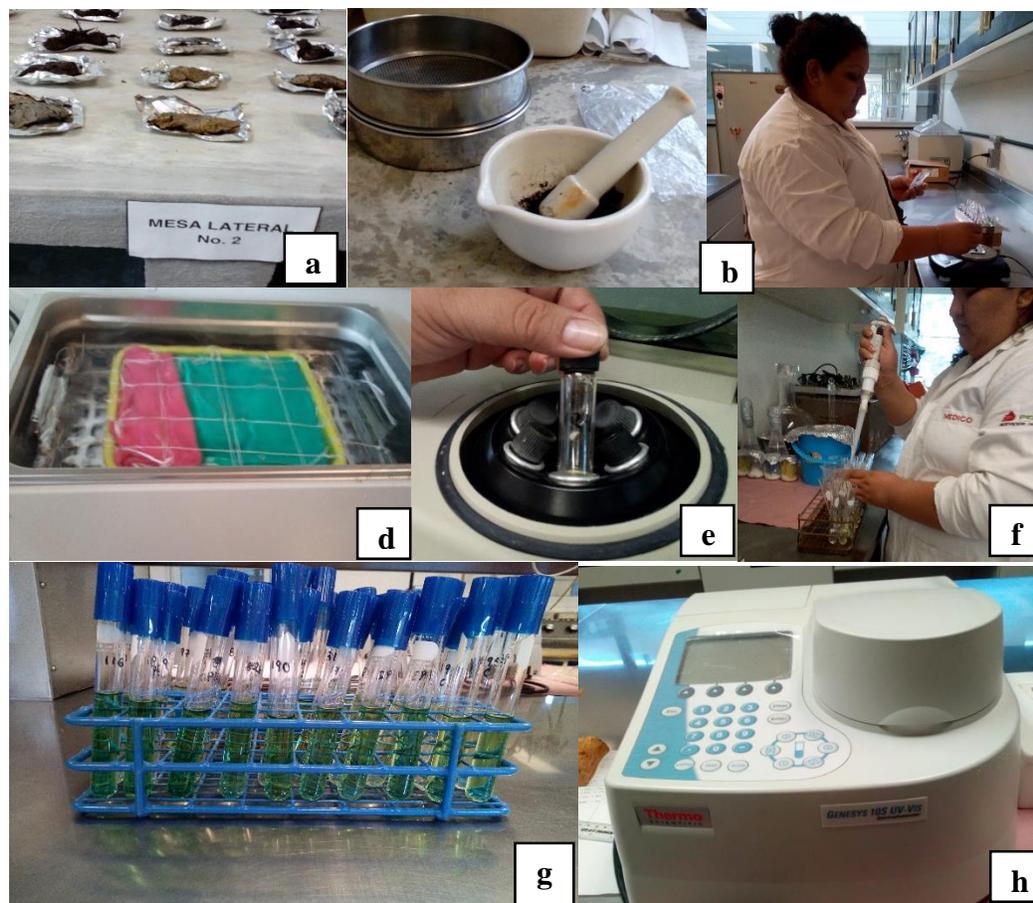


Figura 16. Actividad enzimática de la ureasa; a) muestras secas, b) muestras preparadas, c) Incubación, e) centrifugación, f) desarrollo de la actividad enzimática, y g) cuantificación por espectrofotometría.

5.7. Actividad enzimática fosfatasa ácida de la fosfatasa en rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico

La determinación de la actividad enzimática de la fosfatasa se realizó de acuerdo al método de Tabatabai y Bremner (1969) (adaptado en laboratorio de microbiología, campus Tabasco, Colegio de Postgraduados). 0.5 g de suelo seco y tamizado se colocó en un tubo de ensayo y se agregó 2mL de solución tampón de acetato sódico Na Ac con un pH de 5.5 y 0.5 ml de sustrato, *p*-nitrofenil fosfato de sodio (*p*-nitrophenyl phosphate disodium salt nexahydrate), en este caso solo a las muestras lo contenían, los controles y blancos no lo contenían, posteriormente se incubo a baño maría durante hora y media a una temperatura de 30°C, una vez transcurrido este tiempo se procedió a meter a refrigeración por 30 minutos a una temperatura de 2 a 4 °C, se colocó a los tubos 0.5 ml CaCl₂ 0.5M y 2mL Na OH 0.5M (20g/1L) y se centrifugaron a 3400 rpm durante 8 minutos, una vez listas las muestras se filtraron para tomar 1 ml de sobrenadante y se le agregaron 4 ml de agua desionizada, tornándose a un color amarillo y se procedió a leer a una longitud de onda de 398 nm en un espectrofotómetro, marca GENESYS 10S UV-Vis.

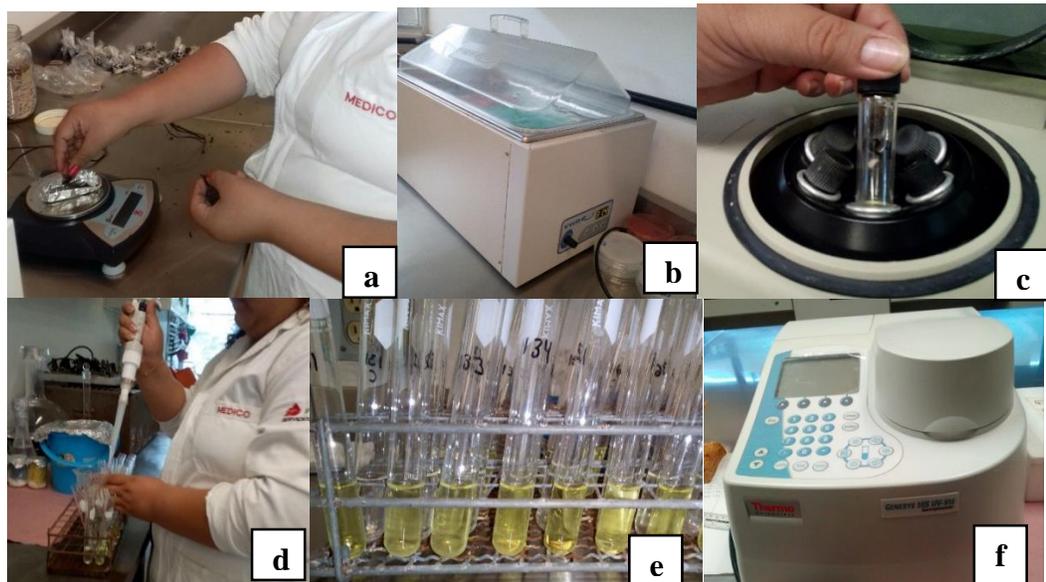


Figura 17. Procedimiento para actividad enzimática de la fosfatasa, a) Preparación de muestras, b) incubación, c) centrifugación, d) alícuota, e) desarrollo de la reacción, y f) Cuantificación con espectrofotómetro.

5.8. Análisis estadísticos

El ANOVA fue usado para analizar en cada suelo (S1, S2, S3 y S4) según el espacio en la profundidad (ESP) de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP). También se analizó pH, EC, COS, NT, PD, AEU, AEP obtenidos de la combinación DHTP y EPS de 20 tratamientos. Las variaciones entre las variables fueron evaluadas con la separación de medias Duncan ($p \leq 0.05$) y la homogenización de los datos de las variables fue verificada. El análisis estadístico fue corrido con el programa SAS versión 8.01 (SAS, 2000). La relación entre DTPH, EPS y las variables fue evaluado con Pearson's correlación-coeficiente usando regresión lineal, para distribución normal de variables con nivel de significación de $p < 0.05$.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6. 1. Efecto del rizoplano, rizosfera de *L. racemosa* y petróleo degradado en las propiedades químicas del suelo

6.1.1. Hidrocarburos totales del petróleo (HTP)

Las medias de las cantidades de HTP extraído del RP, RZ y SNR en cada tipo de suelo tienen diferencias estadísticas (Duncan, $p \leq 0.05$), además la cantidad de petróleo excedió el límite máximo permisible (LMP) de 3000 mg en S3 y S4 con uso forestal NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012 (DOF, 2013). Por otro lado, los resultados de la extracción del petróleo del Histosol evidencian diferencias estadísticas entre el RP, RZ y SNR-1, SNR-2 y SNR-3 (Figura 18). Los mayores contenidos de petróleo superiores al LMP en el RP, RZ y SNR-1, 2 y 3 se encontraron en el S3 y S4, sin embargo el S1 y S2 en los cinco espacios del suelo evaluados los HTPI fueron menores al LMP.

El nivel de contaminación en el RP fue 0.82, 0.26 y 0.69 menor y 0.73, 0.063 y 0.44 menor veces que el SNR- 1, SNR-2 y SNR-3 del S3 y S4, respectivamente. En RZ los contenidos de HTPI en los S3 y S4 fueron 1.0, 0.33 y 0.86 menor veces y 0.76, 0.066 y 0.045 que el SNR-1, 2 y 3 respectivamente.

Los índices de HTP entre RP y SNR-1 y SNR-3 en el S3 y S4 fueron más bajos en S4; el índice fue 0.73 y 0.044, y en S3 aumento a 0.82 y 0.69. Los índices de HTPI entre RZ y SNR-1, SNR-3 semejante a RP fueron más bajos en S4; el índice fue 0.76 y 0.045 y en S3 aumento a 1.02 y 0.86 respectivamente. En el S3, el mayor contenido de HTP fue encontrado en el SNR-2 (14940 mg/kg); en el S4, la más alta concentración se encontró en el SNR- 3 (273861 mg/kg)

Los resultados encontrado en el S4 son dignos de mención porque la cantidad promedio de aceite en RI, RZ y SNR-1, 2 y 3 fueron 12050, 12579, 16352, 189404 y 273861 mg kg⁻¹, respectivamente, y tal vez derivado del contenido de petróleo degradado en este suelo, también podría provenir de la contribución de material crónico acumulado en el pozo La Venta 248 (Figura 17) y otra parte es la cuenca que durante lluvias intensas puede dar lugar a una superficie de agua de hasta 200

cm, pero también por el arrastre de aceite derramado en sitios aledaños y en el Río Tonalá, Veracruz, por subir la marea cada 12 horas.

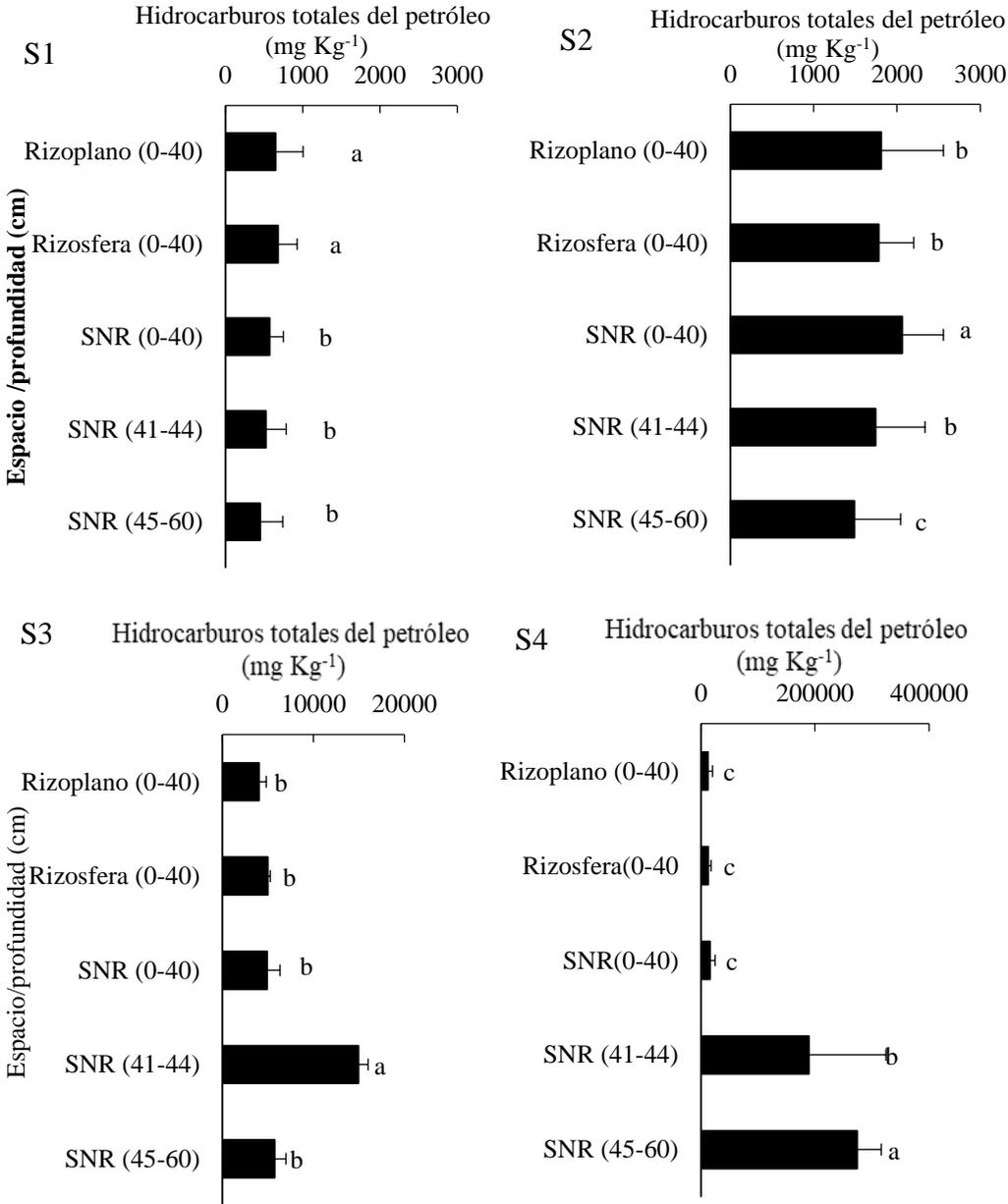


Figura 18. Distribución espacial de hidrocarburos totales del petróleo en el bosque de manglar en cuatro suelos con petróleo intemperizado. S1: 575, S2: 1777, S3: 6912 y S4: 100850 mg/kg HTP. Letras iguales por suelo según la profundidad indican que no hay diferencias significativas (Duncan, $p < 0.05$)

Los HTP derivados del petróleo están presentes en el rizoplano, rizosfera *Languncularia racemosa* y en SNR-1, 2 y 3 (0-32, 33-44 y 45-60 cm) en dos suelos de cuatro, ubicados al norte del pozo taponado La Venta 248. Similares resultados fueron reportados en tierras adyacentes a infraestructura petrolera: entre 1334 a 55000 mg kg⁻¹ base seca, entre 77098 a 37735, y entre 5000 a 100000 mg kg⁻¹ HTP en bosque de manglar (Burns and Codi, 1998; Riveroll-Larios *et al.*, 2015; Little *et al.*, 2018). Por otro lado Little *et al.* (2018) estudio en sedimentos de bosque de manglar encontrando 6750 y 8100 mg kg⁻¹ de petróleo crudo degradado cerca del pozo Bobo y la confluencia con el río Bonny, Nigeria; ellos argumentan que la existencia es derivado de derrame que sucedieron en el año 1983. Al respecto Moore y Dwyer (1974) informa que el tiempo de residencia de los hidrocarburos fósiles en los sedimentos es por tiempo prolongado o en ocasiones puede ser de 3 a 10 años, según la velocidad de degradación de éstos, al respecto, Botello *et al.*, (1996) informa que existen componentes del petróleo que no pueden ser degradados por la acción de los microorganismos se presentan por tiempo largos adsorbidos en partículas de materia orgánica, en forma de breas y alquitranes en el suelo. Estos compuestos petrolíferos enterrados en el sedimento y suelo de pantano, ocasiona obstrucción de poros en agregados y dificultad de flujo de aire y agua para las plantas, y es una prueba de su baja degradación en ambientes anaeróbicos (Burns and Teal 1979; Rivera-Cruz, 2011).

La cantidad de HTP incrementa según la profundidad del espacio en dos suelo del manglar (Figura 18); esto sugiere dos aspectos, 1) el suelo contaminado en los primeros horizontes han sido bioestimulado por el carbono orgánico derivado de materiales orgánicos derivados de hojarasca y tallos del manglar que se han incorporado a través del tiempo, al respecto Orihuela *et al.* (2004) informa que el suelo cubierto con *L. racemosa* recibe una producción de hojarasca en promedio mensual 92.5 g/m²/mes, y 2) la presencia de raíces de anclaje y alimenticias (Prnobasuki and Suzuki 2005) de *Languncularia racemosa* concentradas en el horizonte superficial (0-32 cm) que forman la rizosfera donde los microorganismos degradan y estabilizan hidrocarburos bajo condiciones aeróbicas y anaeróbicas (Muratova *et al.*, 2012).

Naturalmente en el área estudiada tiene lugar la bioestimulación a través de la incorporación de carbono orgánico de origen vegetal y la Fitorremediación usando la rizosfera de *L. racemosa*, en los dos procesos existe sinergismo entre microorganismos y carbono en el ambiente. Los microorganismos anaeróbicos y aeróbicos en suelo con altos contenidos de carbono y rizosfera

de plantas hidrófitas de marismas y manglares en los trópicos, intervienen en la biorremediación del carbono de origen natural e hidrocarburos derivados del petróleo. La bioestimulación es una tecnología que ha sido reconocida por diversos autores para eliminar del suelo a los hidrocarburos del petróleo, Agarry *et al.* (2010) de un suelo con 10% de keroseno, gasolina y diésel de petróleo eliminó un 75% de hidrocarburos al adicionar al suelo estiércol de ave de corral Meza-Ramírez *et al.* (2016) uso composta bovina y eliminó un 40% de hidrocarburos alifáticos y aromáticos en 49 días. La Fitorremediación es una tecnología reconocida por diversos autores en suelos pantanosos y marismas, usa plantas que soportan incrustaciones en raíz con aceites y elimina entre 60 y 72% de HTP en 180 días, usando microorganismos aeróbicos y aneróbicos que habitan la rizosfera (DeLaune *et al.*, 1980; Hambrick *et al.*, 1980; Pezeshki *et al.*, 2000; Björklöf *et al.*, 2008; Rivera-Cruz *et al.*, 2004; Liao *et al.*, 2015).

Sin embargo, acorde a Mehrasbi *et al.* (2003), la acumulación de HTP a través del tiempo o en la capa subyacente del suelo es, debido al agua, inundaciones y temperatura; el aceite a través del tiempo por la adición de materiales orgánicos se queda enterrado; las fracciones pesadas de hidrocarburos se adhieren y son absorbidas por partículas del sustrato expuesto, formando motas y agregados con consistencia al alquitrán. Las fracciones de petróleo acumuladas en subsuelo de los suelos 3 y 4 estudiado han permanecido bajo condiciones anaeróbicas por muchos años, acorde a McGill (2007); Madigan *et al.* (2015), estas condiciones inducen baja degradación de petróleo debido a la falta de electrones de oxígeno.

La baja acumulación de HTP en rizosplano, rizosfera y SNR-1 (0-32 cm) comparado con el SNR-2 (33-44) y SNR-3 (45-60 cm) en dos suelos del Histosol cubierto con *L. racemosa* y altos contenidos de COS, puede explicarse porque el mangle produce abundantes raíces primarias que crecen horizontal y radial a varios metros del árbol con estructuras de ventilación, neumatóforos derivados de la raíz primaria, que crece en forma vertical hacia arriba y con puntas en el aire, raíces laterales horizontales de alimentación que emergen de los neumatóforos, y raíces de anclaje debajo de la raíz primaria, su crecimiento es vertical hacia abajo (Prnobasuki and Suzuki, 2005). La presencia de raíces en el suelo forma el rizoplano y rizosfera donde los microorganismos degradan y estabilizan hidrocarburos aeróbicamente (Muratova *et al.*, 2012), pero además de la abundancia de raíces en el espesor 0-40 cm del suelo en el bosque de manglar, ñexiste un altos contenidos de COS (Cuadro 2), que según Mier (2015) este se integra por polímeros (celulosa, hemicelulosa y lignina) de plantas, hongos, bacterias y artrópodos. Estos polímeros son el

suplemento de alimento disponible que soporta la actividad heterótrofa, y son degradados al igual que los hidrocarburos poliaromáticos por enzimas extracelulares en condiciones aeróbicas y anaeróbicas.

6.1.2. Potencial de hidrogeno y conductividad eléctrica

La combinación del efecto DTPH y EPS en el pH y CE determinado en los cuatro suelos del bosque de *L. racemosa*, son estadísticamente diferentes (Duncan $p \leq 0.05$) entre la media de los diferentes tratamientos del pH y CE (Cuadro 2). Se distingue el pH fuertemente ácido y CE salina en RP, SR y SNR-1 de los cuatro suelos.

A través de la DTPHI (6912 y 100 850 mg) y EPS (SNR-2 y SNR-3) promovieron un pH alto (Cuadro 1), la correlación no muestra significativa relación entre DTPHI *versus* pH (Cuadro 5), pero correlación positiva altamente significativa entre EPS y pH (.621**). El pH fue directamente proporcional a la AEU, pero inversamente a CE (-.206*), COS (-.616**) y AEF (-.195*). La DTPH (6912 mg) y espacio (RZ) incrementaron a la CE (Cuadro ñ1), la correlación muestra negativa significativa DTPH *versus* CE pero negativa altamente significativa entre EPS y CE (-.443**). La CE se correlación positivamente y altamente significativa con COS (.486**), NT (.417**), PD (.364**) y AEF (.444**) (Cuadro 5).

El pH y la CE aparentemente fueron sensibles al EPS, pero la CE fue más sensible, porque si hay efecto significativo de los DHTP en ella, siendo menor la salinidad en suelo contaminado con 6912 y 100 850 mgkg^{-1} .

Altas dosis de petróleo, 6912 y 100850 mg kg^{-1} combinado con SNR-2 y SNR-3 promovieron pH alto (6.4 y 6.2), pero baja CE (1.9 dSm^{-1}), siendo el RP, RZ y SNR-1 salino ubicados en el espesor 0-40 cm en donde el pH es menor (fuertemente ácido) y CE mayor. Estos resultados en pH no coinciden con lo reportado por Das *et al.* (2012) en suelo aluvial Arenosol de manglar que indican valores entre 7.9 a 8.25 cm de pH en el espesor 0-40 cm, y 8.25 a 8.19 en espesor 41-60 cm; pero coincide con Alongi *et al.* (2000); Odokuma y Dickson (2003) al menos en los valores de pH entre 5 a 6.3 en el espesor de 0-30 cm de suelo con manglar. Al respecto Gleason *et al.* (2003); Marschand *et al.* (2003) indican que $\text{pH} < 7.0$ es atribuido a la oxidación de sulfuro de hierro en superficie de raíces. El aumento en un 15.7 y 20% del pH en SNR-2 y SNR-3 respecto a valor

medio de RP, RZ y SNR-1, pueden explicarse por la disminución de COS en SNR, confirmado por la relación altamente significativa negativa pH-COS (-0.616**), estos datos son similares a estudios previos en suelo contaminado con petróleo intemperizado por 20 años, que reportan que conforme disminuye el carbono total incrementa el pH en suelo (Wang *et al.*, 2010).

La relación del pH con los HTPI en suelo fue con baja relación significativa ($r=0.182^*$), siendo moderadamente ácidos los suelos no contaminados y contaminados con petróleo intemperizado, el incremento de pH en S3 y S4 es tan solo de 1.88 a 3.7% respecto al S1 y S2, que difiere de resultados de estudios previos, que reportan aumento de la concentración de HTP en el suelo disminuye el pH (Leahy y Colwell, 1990; Gong *et al.*, 2008), pero coincide con los resultados de Wang *et al.* (2010); Kisić *et al.* (2009), el valores de pH incrementa al incrementar los HTP en el suelo.

Los valores más bajos de pH en el espesor 0-40 cm superficial respecto al subsuperficial del suelo no contaminado y contaminado con petróleo crudo intemperizado podría ser porque los materiales orgánicos (biopolímeros y fenoles compuestos; ácido crenic, ácido hymelanico, ácido fúlvico y ácidos húmicos) son descompuestos por los microorganismos a ácidos orgánicos, dióxido de carbono y agua formando el ácido carbónico. El ácido carbónico reacciona a su vez con Ca y Mg en el suelo formando bicarbonato soluble que se lixivia, haciendo al suelo más ácido (Jean-Michel *et al.*, 2004), así mismo porque los manglares ubicados en la riviéra de los ríos y lagunas se comportan como estanques que acumula materia orgánica sin salidas y poca entrada, por lo que recibe poco calcio del paisaje circundante y, por lo tanto, son bastante ácidos (Brady y Well, 2008).

La mayor Conductividad Eléctrica en el RP, RZ y SNR-1 (0-40 cm) ubicados en el horizonte superficial del suelo con *L. racemosa* no coincide con lo reportado Das *et al* (2012) en suelo arcillo arenoso aluvial, e indica que la salinidad incrementa con la profundidad del suelo, sin embargo este incremento superficial de la CE puede ser por deposición de sales derivada del bombeo y descarga de agua de marea a través del río Tonalá, y por el agua congénita salina del petróleo crudo que proviene del Complejo Petroquímico La Venta Tabasco. El agua salina es depositada en un canal que la conduce hasta el mar, sin embargo las inundaciones periódicas en la región desbordan el agua e invade el bosque. Otros factores que induce incremento puede ser; (a)

por la presencia de hidrocarburos del petróleo, esto ha sido comprobado por Osuji *et al.* (2006); Agbogidi *et al.* (2007) que encontró que los hidrocarburos en el suelo se asocian con la acumulación de bases intercambiables (como Ca^{2+} , Na^{+}). (b) Agua congénitas de origen salino que acompañan al aceite y estos por derrame se depositan al igual que el petróleo sobre los espacios superficiales del humedal (Wang *et al.*, 2010). La CE moderadamente salina en capas subyacentes (SNR-2, SNR-3) del bosque de manglar, indica que este espacio posiblemente no recibe lixiviado de bicarbonato soluble derivados del ácido carbónico que reacciona con carbonatos de Ca y Mg en la superficie del suelo, cationes intercambiables que determinan cuando un suelo es sódico-salino con una CE elevada (Richards, 1985).

Cuadro 3. Potencial hidrogeno y conductividad eléctrica según concentración de petróleo intemperizado y profundidad del suelo.

Suelo	HTP mg kg ⁻¹	Espacio/ Profundidad (cm)	pH 1:2H ₂ O	Clasificación ^{&}	CE (dSm ⁻¹ a 25°C)	Clasificación ^{&}
S1	575	RP (0-40)	4.9 ef [¶]	F. ácido	5.3ab	Salino
		RZ(0-40)	4.8 ef	F. ácido	4.6abc	Salino
		SNR-1 (0-40)	4.8 ef	F. ácido	5.5ab	Salino
		SNR- 2(41-44)	5.5 cd	M. ácido	2.8cde	M. salino
		SNR- 3(45-60)	6.0 ab	M. ácido	2.6cde	M. salino
S2	1777	RP(0-40)	4.9 def	F. ácido	5.2ab	Salino
		RZ(0-40)	4.8 f	F. ácido	5.2ab	Salino
		SNR- 1(0-40)	5.0 def	F. ácido	4.0abcde	Salino
		SNR- 2(41-44)	5.9 abc	M. Ácido	3.6bcde	M. salino
		SNR- 3(45-60)	6.0 ab	M. ácido	2.8cde	M. salino
S3	6912	RP (0-40)	5.0 cde	F. ácido	4.4abcd	Salino
		RZ (0-40)	4.5 f	F. ácido	6.3a	Salino
		SNR- 1(0-40)	5.0 def	F. ácido	4.0abcde	Salino
		SNR- 2(41-44)	5.4 bcde	M. ácido	2.2ed	M. salino
		SNR- 3(45-60)	6.4 a	M. ácido	1.9c	ML salino
S4	100	RP (0-40)	4.7f	F. ácido	5.7ab	Salino
	850	RZ(0-40)	4.9 def	F. ácido	5.8ab	Salino
		SNR- 1(0-40)	4.7 f	F. ácido	4.3abcd	Salino
		SNR- 2(41-44)	6.2 a	M. ácido	1.9e	ML salino
		SNR- 3(45-60)	5.9 abc	M. ácido	2.3de	M. salino
<u>Espacio/profundidad</u>						
		RP (0-40)	4.8b [†]	F. ácido	5.1a	Salino
		RZ(0-40)	4.7b	F. ácido	5.3a	Salino
		SNR- 1(0-40)	4.9b	F. ácido	4.5a	Salino
		SNR- 2(41-44)	5.7a	M. ácido	2.6b	M. salino
		SNR- 3(45-60)	6.0a	M. ácido	2.5b	M. salino
<u>Dosis (HTP mgkg⁻¹)</u>						
	S1: 575		5.2a [§]	M. ácido	4.1a	Salino
	S2:1777		5.2a	M. ácido	4.3a	Salino
	S3:6912		5.2a	M. ácido	3.8b	M. Salino
	S4:100850		5.4a	M. ácido	4b	M. Salino

[¶]Letras iguales por columna según profundidad y espacio indican que no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05). [†] Letras iguales por columna según espacio en la profundidad del suelo no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05). [§] Letras iguales en columna obtenidas según nivel de HTPI no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05). F: Fuertemente. M: Moderadamente. ML: Muy ligeramente. [&]: Según la NOM-021 RECNAT-2000 (DOF, 2002)

6.1.3. Carbono orgánico, nitrógeno y fósforo

Las medias de los valores de COS, NT y PD muestran diferencias estadísticas (Duncan, $p \leq 0.05$) causada por el combinado efecto de DHTP y EPS (Cuadro 3). Los valores de COS entre 4 a 36% es muy fértil en los veinte tratamientos según los parámetros establecidos con fines de fertilidad por Rodríguez y Rodríguez (2011) para el de bosque de manglar. Sobresale el RP de *L. racemosa* en suelo con 575 y 1777 mg y RZ en 6812 y 100 850 mg de HTP que inducen el mayor contenido de COS con 34, 36, 37.7 y 35% respectivamente.

Sin embargo, en los suelo sin y contaminados el mayor COS entre 30 a 37% se observan en RP, RZ y SNR-1, siguiendo SNR-2 con 18 a 21.8 % de los suelo contaminados (6912 y 100 850 mg). Las menores valores entre 4 y 9% fueron en SNR sin contaminación SNR-2 y 3 (S1) y SNR-3 (S3 y 4) (Cuadro 3).

Los resultados confirman (Cuadro 3) que la RZ inducen el mayor contenido de COS (35%) seguidos por el RP y SNR-1. En adición la DHTPI en suelo no indujo incremento en el COS. La correlación fue negativa y altamente significativa (-.728) entre COS y la EPS; en adición, el COS incrementa directamente (.441**) con el contenido de NT, (.501**) PD y (.545**) AEF (Cuadro 5).

En los micronutrientes también hay diferencias estadísticas (Duncan, $p \leq 0.05$) en el NT y PD (Cuadro 2), el RP de *L. racemosa* en suelo sin (575 y 1777 mg HTP) y contaminado (6012 y 100850 mg) indujo el mayor contenido de NT, siendo según la fertilidad del suelo rico. La combinación de 475, 1777, 6912 y 100850 mg kg^{-1} de HTPI con RZ favoreció al NT (0.26 a 0.49 %), clasificándose según los niveles de fertilidad similar al RP (Cuadro 2). Algunas tendencias fueron identificadas por el efecto del espacio en la profundidad. Nuestros resultados muestran (cuadro 2) que el NT en RP y RZ es favorecido al clasificarse con niveles de fertilidad rico, respecto a SNR-1, 2 y 3 caracterizado como medianamente rico y extremadamente pobre. El efecto de la DHTPI en el NT indujo diferencias significativas, siendo el S3 con 6612 mg el que acumulo mayor contenido, sin embargo los cuatro suelos son ricos en NT (Cuadro 2). La correlación fue negativa y altamente significativa (-.741**) entre NT y la DHTP, pero fue positiva y altamente significativa (.441**, .321** y .872**) entre NT, COS, PD y AEF respectivamente (Cuadro 5).

La relación del COS/NT causado por la combinación del efecto de DHTP y EPS fue menor (29.8, 29, 20.8 y 27) en el RP de los suelo con 575, 1777, 6912 y 100850 mg HTP, respectivamente. La alta relación COS/N (500) fue en SNR-2 (41-44 cm) del suelo con 100 850 mg HTP. Hay diferencias significativas en la relación COS/N por efecto del EPS, siendo menor (18) en RZ y mayor entre 117 a 228 en RZ y SNR ubicados en capas subsuperficial.

El efecto de la DHTP en la relación COS/N fue mayor en el suelo con mayor contaminación (100850 mg), e iguales estadísticamente en suelo sin contaminación (575 y 1777 mg) y contaminación baja 86912 mg HTP.

Hay diferencias estadísticas (Duncan $p \leq 0.05$) en el PD causado por la combinación del efecto de DHTP y EPS, el alto contenido (541 y 576 mg kg^{-1}) fue en el suelo con 1777 mg HTP cubierto con RP y RZ de *L. racemosa* (Cuadro 2). El bajo contenido de PD (191 mg kg^{-1}) fue en suelo con 100 850 mg kg^{-1} de HTPI de SNR-3 a una profundidad de 45-60 cm). Generalmente el mayor contenido de PD fue en RP, RZ y SNR-1 ubicados en el espesor (0-40 cm), y el menor en SNR-2 y SNR-3 espesor 41-44 y 45-60 cm. La correlación de DHTP y PD fue negativa y significativa (-.177*), así mismo el EPS lo disminuye significativamente (-.728**) pero el COS y la AEF incrementan (.501**, .408**) el contenido de PD en el suelo del manglar (Cuadro 5).

Cuadro 4. Efecto de la dosis de petróleo intemperizado y el espacio en la profundidad en el carbono orgánico y nutriente en el bosque de manglar

Suelo	TPH mg kg ⁻¹	Espacio/ Profundidad (cm)	COS (%)	NT (%)	Clasificación ^{&} NT	COS/NT	PD (mg kg ⁻¹)
S1	575	RP (0-40)	34a [†]	1.14a	Rico	29.8	460edcba
		RZ(0-40)	33abc	0.26c	Rico	127	508cba
		SNR- 1(0-40)	32abc	0.21d	MR	152	386fedcba
		SNR- 2(41-44)	7.4f	0.08cde	MP	92	338fedcba
		SNR- 3(45-60)	6.0f	0.05ef	EP	120	207fe
S2	1777	RP(0-40)	36a	1.22a	Rico	29	541a
		RZ(0-40)	36a	0.27c	Rico	133	576a
		SNR- 1(0-40)	30abc	0.20e	MR	150	417edcba
		SNR- 2(33-44)	9.4ef	0.09def	MP	104	345fedcba
		SNR- 3(45-60)	4.0f	0.04ef	EP	100	236fed
S3	6912	RP (0-40)	25bcd	1.20a	Rico	20.8	308fedcb
		RZ(0-40)	37.7a	.29c	Rico	130	494dcba
		SNR- 1(0-40)	32abc	0.27c	Rico	118	393fedcba
		SNR- 2(41-44)	18e	0.10def	MP	164	245fedc
		SNR-3(45-60)	5.0f	0.03f	EP	167	323 fedcba
S4	100 850	RP (0-40)	31abc	1.14a	Rico	27	533ab
		RZ(0-40)	35a	0.49b	Rico	71	441 fedcba
		SNR-1(0-40)	35a	0.20cde	MR	175	326fed
		SNR- 2(41-44)	22cd	0.04ef	EP	545	267 fedcb
		SNR-3(45-60)	4.0f	0.04f	EP	100	191f
<u>Espacio/profundidad</u>							
		RP (0-40)	32a [†]	1.81a	Rico	18	463.9a
		RZ (0-40)	35a	0.3b	Rico	117	527a
		SNR- 1(0-40)	32a	0.2c	MR	160	423a
		SNR-2(41-44)	16b	0.07d	Pobre	228	287.8b
		SNR-3(45-60)	5.3c	0.04d	EP	132	225.6b
<u>Dosis de HTP</u>							
	S1		22a [§]	0.33b	Rico	67	363ba
	S2		24a	0.37ab	Rico	65	437a
	S3		25a	0.41a	Rico	61	329b
	S4		26a	0.33b	Rico	79	381ba

[†]Letras iguales por columna según profundidad y espacio indican que no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05). [†] Letras iguales por columna según espacio en la profundidad del suelo no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05). [§] Letras iguales en columna obtenidas según nivel de HTPI no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05). [&] según los parámetros de fertilidad establecidos por Rodríguez y Rodríguez 2011.

El efecto del EPS combinado con DHTP en el COS acumulado en RP del S1 (575 mg) y RP y RZ en S2, S2 y S3 es debido a que la rizosfera por ser el espacio comprendida por raíz y suelo (espesor 0-40 cm), recibe diversos materiales orgánicos derivados de; caída de biomasa vegetal del manglar, depósito de exudados orgánicos radicales y petróleo crudo de actividades petrolíferas en la región. El efecto inversamente proporcional de EPS en el COS del suelo (-.728**), siendo un 32 a 35% en el espesor 0-40 cm, estos resultados coinciden con los altos contenidos (14.34 a 27.67%) en el espesor de 0-45 cm de un suelo con petróleo degradado y con mangle (Riveroll-Larios *et al.*, 2015), así mismo Odokuma y Dickson (2003) reporta (10.41%) en el espesor de 0-30 cm de un suelo con *L. racemosa*, y Yuan *et al.* (2014) informa un 55.28% de COS en los 30 cm superiores del suelo con bosque de manglar (*A. corniculatum*), ubicado en plano de marea alta, donde la inundación es temporal. La acumulación de materiales orgánicos en el bosque de manglar puede producirse *in situ* y almacenarse bajo tierra y en raíces de manglares adultos que está directamente relacionada a lo largo de la columna de sedimentos (Ray *et al.*, 2011; Osland *et al.*, 2012; Lunstrum y Chen, 2014) y en particular *L. racemosa* en bosque de cuenca produce 92.5 g/m²/mes de hojarasca que se acumula en el espesor superficial del suelo. Sin embargo, la deposición de materia orgánica sedimentaria alóctona de los ríos o adyacentes a las zonas costeras también pueden influir en las tasas de acumulación (Dyer, 1996; Smoak *et al.*, 2013; Black and Shimmiel, 2003). Sin embargo, por la ubicación del bosque evaluado el COS no es sujeta a erosión, es un área de marea baja plana en donde la lámina de agua logra subir 56±13 cm del suelo en época de sequía y lluvias

El incremento (18.55%) del COS en el suelo con 100 850 mg kg⁻¹, respecto al suelo sin contaminación, coincide con resultados de mayor COS (14.34 a 27.67%) cuando incrementa el petróleo degradado en el suelo (77 000 mgkg⁻¹) respecto a un suelo con menor contaminación (20 000 mg kg⁻¹), estos valores son 14.34 a 27 y 4.67 a 5.3 respectivamente (Riveroll-Larios *et al.*, 2015). Así mismo, Lin y Mendelsohn (1996); Riveroll-Larios *et al.* (2015) encontró que la concentración de petróleo está asociadas positivamente con el contenido de COS.

La presencia del RP y RZ de *L. racemosa* en suelo sin y con petróleo degradado indujo un mayor contenido de NT respecto al SNR-1, 2 y 3, disminuye conforme se incrementa la profundidad del suelo, resultados similares en contenido de Nitrato-Nitrógeno fueron reportados en el bosque de

manglar en Sundarban India (Das *et al.*, 2012). Este resultado puede por la denitrificación que se mejora en la rizosfera y el rizosplano, debido a los potenciales redox más bajos en estas zonas inducidos por el oxígeno de sus raíces, que simulan la nitrificación y la posterior desnitrificación después de la difusión del nitrato en la zona reducida a cierta distancia de la raíz (Philippot *et al.*, 2009). Se encontró efecto nulo de HTP degradados en NT en los cuatro suelos del bosque de manglar alcanzando niveles de fertilidad ricos, pero no coincide con lo reportado por Riveroll-Larios *et al.* (2015) e indica que suelo del bosque de manglar con 55 670 mg kg⁻¹ HTP degradado el NT es rico pero moderadamente rico en 64548 y 37735 mg kg⁻¹; Así mismo según Rivera-Cruz *et al.* (2012) los contenidos de NT (3%) en suelo con 78 456 mg kg⁻¹ HTP degradados y plantado con el pasto *Brachiaria mutica* son menores en un 36% respecto al suelo sin contaminación.

Esta respuesta puede estar asociado con la densidad de microorganismos en suelos contaminado (Mohn and Stewart, 2000) y con la actividad enzimática de la ureasa que cataliza la hidrólisis de la urea a amonio (Pinck and Allison 1961), aunque en esta investigación la relación NT*AEU sin efecto alguno (Cuadro 5).

La relación menor COS/N en el RP de *L. racemosa* de los suelos sin y contaminados con petróleo indican una mayor mineralización de los residuos orgánicos, respecto a la desarrollada en RZ y SNR-1, 2 y 3. El rizoplano es un espacio definido como la superficie exterior de la rizodermis y está rodeado por la rizosfera exterior (Neumann and Römheld, 2012), la mineralización del COS en rizoplano de manglar puede ser a las condiciones de oxigenación inducido por la raíz y la población microbiana en zona apical radical que amonifican y nitrifican a partir de compuestos orgánicos (Marschner, 2012). En ambientes anaeróbicos según Revsbech *et al.*, (1999) a bajas concentraciones de O₂ en el suelo, las especies de plantas adaptadas, también pueden liberar O₂, transportado desde partes aéreas de plantas con gradientes que se extienden de 0.4 a 4.0 mm desde la superficie de la raíz.

El PD mayor en el espesor 0-45 cm en RP, RZ y SNR-1 de suelo sin y contaminado con petróleo degradador, así como la relación altamente significativa y positiva con el COS y la AEF, indica alta mineralización que según Nehl and Knox (2006) son las bacterias solubilizadoras de fosfato las que metabolizan a los ácidos orgánicos, y el metabolismo en dos o tres veces más rápido en la rizosfera que en el suelo a distancia. Al respecto Das *et al.* (2012) reporta altos contenidos de P en el espesor de 0-30 cm de suelo con manglar, respecto a suelo con mayor profundidad. El efecto

negativo con bajo nivel de significancia de los HTP* PD indica que el petróleo degradado en el suelo del manglar no es un factor que altere la mineralización, sin embargo, existen reportes que informan lo contrario un suelo con 64548 respecto a suelo con 37735 mg de petróleo degradado contiene mayor disponibilidad de P, se incrementa un 54% (Riveroll-Larios *et al.*, 2015).

6.1.4. Actividad enzimática

La media de la actividad enzimática ureasa y fosfatasa ácida muestran diferencias estadísticas (Duncan ≤ 0.05) causadas por la DHTP y el espacio en la profundidad del suelo (Cuadro 4). El SNR-3 ubicado en el espesor 45-60 cm del suelo con 577, 1777, 68912 y 100850 mg kg⁻¹ HTP, induce la mayor actividad enzimática de la ureasa con 96, 97, 96 y 98 $\mu\text{molN-NH}_3\text{g}$. Estos resultados sugieren que el suelo no rizosférico promueve a la actividad enzimática de la ureasa, pero no a la fosfatasa ácida. Por otro lado, la cantidad mayor de actividad enzimática de la fosfatasa fue promovida en el rizoplano del suelo con 100850 mg kg⁻¹ HTP, con 9600 ($\mu\text{moles PNFg}$). Los resultados confirman que el SNR y el RP estimulan la mayor actividad enzimática de la ureasa (97 $\mu\text{molN-NH}_3\text{g}$) y fosfatasa (7852 $\mu\text{moles PNFg}$) respectivamente. En adición el efecto de DHTP en las dos actividades enzimáticas fueron no significativas (Cuadro 4). Se distingue, la correlación altamente significativa y positiva (.545**, .872**, .408**) entre AEF, COS, NT y PD, pero no fue favorable la relación con el EPS (-.717**).

La distribución vertical de la actividad de la ureasa fue diferente en los cuatros suelos sin y contaminado con petróleo y ella incrementa cuando la profundidad es mayor. Previos estudios no coinciden con los obtenidos en este estudio, reportan que la actividad de la ureasa decrece cuando incrementa la profundidad del suelo (Das *et al.*, 2017), y argumentan que es debido a los ciclos bioquímicos que se desarrollan en la superficie del suelo en donde existe COS y N esencial para el crecimiento y metabolismo de procariotes y eucariotes. Sin embargo, en esta investigación la mayor actividad de la ureasa sucede en SNR-3 a profundidad de 45-60 cm en donde los contenidos de NT y COS son menores (Cuadro 3). Las condiciones anóxicas del subsuelo del manglar con pH moderadamente ácido, CE moderadamente salino e HTP bajos, medios y altos favorecen el desarrollo de la actividad enzimática de la ureasa, se puede atribuir a una mayor estabilidad de la

proteína en material arcilloso en zona sin raíces (SNR, 45 a 60 cm) debido al ataque de la marea que introduce y retira materiales orgánicos a través del agua.

El RP de los cuatro suelos indujo la mayor actividad de la fosfatasa ácida, sobresale RP de *L. racemosa* en suelo con mayor contaminación por la alta actividad. La rizodermis ubicada en la rizosfera de mangle ha sido reportada por Paulinis y Sánchez-Arias (2008) como un espacio en donde la actividad enzimática de la fosfatasa ácida es mayor ($471 \mu\text{gPNFg}^{-1}\text{h}$) respecto al suelo a distancia (87). George *et al.* (2006) reporta actividad enzimática alta en rizosfera 130.7 a 218.8 pKat g^{-1} suelo. El incremento de la fosfatasa en rizoplano y rizosfera puede ser porque la planta libera fosfatasa extracelular de raíz para mejorar la adquisición de P a partir de la hidrólisis de formas orgánicas de P en el suelo (Richardson *et al.*, 2005) y también por las bacterias solubilizadoras de P que liberan fosfatasa extracelular. En nutrición vegetal se ha explicado que la raíz libera fosfatasa extracelular en respuesta a la deficiencia de P en el suelo (Chen *et al.*, 2002), así mismo se informa que la fosfatasa es inhibida por los productos finales de su reacción enzimática, el anión ortofosfato y debe esperarse un bajo nivel de estas enzimas en la rizosfera de *Rhizophora Mangle* (Paulinis y Sánchez-Arias, 2008), sin embargo esto no sucedió en esta investigación, se presenta una relación altamente significativa y positiva PD-AEF (.408**) PD y COS (.545**) (Cuadro 5).

El nulo efecto del petróleo degradado en la AEF en el bosque de manglar indica que es un ecosistema estable, y posiblemente se debe a la disponibilidad de P orgánico en los cinco compartimentos del suelo, sobre todo ortofosfato monoésteres que es el sustrato de la enzima. Otras investigación reportan lo contrario; Pilipovic *et al.* (2014), informan que la actividad enzimática de la fosfatasa ácida en la rizosfera aumenta en suelo con poca contaminación (5%), pero disminuye significativamente con el aumento de aceite (50%).

Cuadro 5. Efecto de la dosis de petróleo intemperizado en suelo y el espacio en la profundidad en la actividad enzimática

Suelo	DTPH (mg kg ⁻¹)	Espacio/ profundidad (cm)	Actividad enzimática	
			Ureasa (μmolN- NH ₃ g)	Fosfatasa (μmoles PNFg)
S1	575	RP (0-40)	84ab [¶]	7877b
		RZ(0-40)	84ab	3266fed
		SNR- 1(0-40)	94ab	2710gfe
		SNR- 2(41-44)	87ab	1215ihg
		SNR- 3(45-60)	96a	992ih
S2	1777	RP(0-40)	88ab	8092b
		RZ(0-40)	92ab	2972fed
		SNR- 1(0-40)	89ab	3129fed
		SNR- 2(33-44)	95ab	1986ihg
		SNR- 3(45-60)	97a	471i
S3	6912	RP (0-40)	86ab	6239c
		RZ(0-40)	78ab	4062ed
		SNR- 1(0-40)	89ab	3434fed
		SNR- 2(41-44)	88ab	2470hgfe
		SNR-3(45-60)	96a	652i
S4	100 850	RP (0-40)	82ab	9600a
		RZ(0-40)	94a	6239c
		SNR-1(0-40)	92ab	2437hgfe
		SNR- 2(41-44)	75b	1130ihg
		SNR-3(45-60)	98a	499i
<u>Espacio/profundidad</u>				
		RP (0-40)	86b [†]	7854a
		RZ (0-40)	88b	3435b
		SNR- 1(0-40)	91b	2954b
		SNR-2(41-44)	86b	1788c
		SNR-3(45-60)	97a	736d
<u>Dosis de HTP</u>				
		S1	90a [§]	3212a
		S2	92a	3330a
		S3	87a	3371a
		S4	86a	3981a

[¶]Letras iguales por columna según profundidad y espacio indican que no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05). [†] Letras iguales por columna según espacio en la profundidad del suelo no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05). [§] Letras iguales en columna obtenidas según nivel de HTP no hay diferencias significativas (Duncan p<0.05).

Cuadro 6. Pearson's correlación de hidrocarburos totales del petróleo, espacio en la profundidad, variables químicas y actividad enzimática

	EPS	pH	CE	COS	NT	PD	AEU	AEF
HTP	.199*	.182*	-.176*	NS	NS	-.177*	NS	-.173*
EPS		.621**	-.443**	-.728**	-.741**	-.368**	-.728**	-.717**
pH			-.206*	-.616*	NS	NS	.472**	-.195*
CE				.486**	.417**	.364**	NS	.444**
COS					.432**	.501**	NS	.545**
NT						.321**	NS	.872**
PD							.193*	.408**
AEU								.213**

HTP: Hidrocarburos totales del petróleo. EPS: Espacio en la profundidad del suelo. pH: potencial hidrogeno. CE: Conductividad eléctrica. COS: Carbono orgánico. NT: Nitrógeno total. PD: Fósforo disponible. AEU: Actividad enzimática ureasa. AEP: Actividad enzimática fosfatasa.

VII. CONCLUSIONES

7.1. Conclusión general

La distribución espacial de los hidrocarburos totales del petróleo permitieron delimitar cuatro tipos de suelos que contuvieron diferentes niveles de petróleo intemperizado, así mismo el espacio en la profundidad [rizoplano (0-40 cm), rizosfera (0-40), suelo no rizosférico (0-40cm), suelo no rizosférico (41-44 y 45-60 cm)] y los niveles de contaminación indujeron diferencias significativas en las propiedades químicas y enzimáticas.

7.2. Conclusiones particulares

La acumulación de hidrocarburos del petróleo residual fue mayor en suelo no rizosférico de capas subyacentes que en el rizoplano y rizosfera en los suelos 3 y 4 del área de estudio adyacente a la infraestructura petrolera.

La presencia del rizoplano, rizosfera y suelo no rizosférico en el espesor 0-40 cm indujo disminución de pH e incremento de la conductividad eléctrica respecto a las capas subyacentes.

El espesor del suelo 0-40 cm conteniendo rizoplano, rizósfera y suelo no rizosférico de *L. racemosa* estimula la acumulación de carbono orgánico y el fósforo disponible, pero el N total incrementa en rizoplano y rizósfera de los cuatro suelo con diferentes niveles de contaminación. Así mismo, la actividad enzimática de la ureasa es estimulada en suelo no rizosférico (45-60 cm) y fosfatasa en el rizoplano.

El efecto de las dosis de hidrocarburos totales del petróleo en el suelo afecto negativamente al fósforo disponible y la salinidad, pero no fue afectado el carbono total, nitrógeno total, la actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa.

En general los resultados sugieren que el rizoplano de mangle *L. racemosa* es sostenible en suelo contaminado por hidrocarburos derivados del petróleo intemperizado, debido a que es estimulador de la disponibilidad de nitrógeno y fosfatos que pueden ser utilizados por los microorganismos y

la planta, así mismo la actividad enzimática de la ureasa y fosfatasa es estadísticamente igual en suelo sin contaminación y contaminado con 6912 y 100850 mg kg⁻¹ de hidrocarburos totales del petróleo derivados del petróleo intemperizado.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acosta Y., y Paolini J. 2005. Actividad de la enzima deshidrogenasa en un suelo Calciorthids enmendado con residuos orgánicos. *Agronomía Tropical*. 55:217-232.
- Agarry S.E., Owabor C.N., and Yusuf R.O. 2010. Bioremediation of Soil Artificially Contaminated with Petroleum Hydrocarbon Oil Mixtures: Evaluation of the Use of Animal Manure and Chemical Fertilizer. *Bioremediation Journal*. 14: 189-195.
- Agbogidi M.O., P.G. Eruotor S.O. Akparobi., and Nnaji G.U. 2007. Evaluation of Crude Oil Contaminated Soil on the Mineral Nutrient Elements of Maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agronomy*. 6: 188-193.
- Agraz-Hernández C., Noriega-Trejo R., López-Portillo J., Flores-Verdugo F., y Jiménez Z. J. 2006. Guía de campo. Identificación de los Manglares en México. Universidad Autónoma de Campeche. Campeche, México. 45 p.
- Aksornkoae S. 1993. Ecology and management of mangroves. International Union for Conservation of Nature & Natural Resources, IUCN, Bangkok, Thailand. 176 p.
- Alongi D.M, Tirendi F., Trott L.A., and Xuan T.T. 2000. Benthic decomposition rates and pathways in plantations of the mangrove *Rhizophora apiculata* in the Mekong delta, Vietnam. *Marine Ecology Progress Se*. 194: 87-101.
- Arias T.A. 2012. La ecotoxicidad y el pasto japonesa (*Leersia* sp) en la fitorremediación de un Gleysol contaminado con petróleos fresco e intemperizado y sulfatos. Tesis de Maestría en producción Agroalimentaria en el Trópico. Colegio de Postgraduados. H. Cárdenas, Tabasco. 161p.
- Atlas R.M., y Bartha R. 2002. Ecología microbiana y Microbiología ambiental. 4a. ed. Pearson Educación, S. A. España. 312 p.
- Bautista Z.F., y Estrada M.H. 1998. Conservación y manejo de los suelos. Revista UNAM. Universidad Autónoma de México. Ciencias. 050, 50-55.
- Baran S., Bielinska J.E., and Oleszczuk P. 2004. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Geodema*, 119: 221-232.
- Benítez Pardo, D., Flores V., y Valdez H.J.I. 2002. Reproducción vegetativa de dos especies arbóreas en un manglar de la costa norte del pacifico mexicano. *Madera y Bosques*, 8: 57-71.
- Berg G., and Smalla K. 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiol Ecol*, 68:1-13

- Botello A.V. 2005. Características, composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo. *In: Botello A.V., Von Osten J.R., Gold-Bouchot G. y Agraz- Hernández C. (Eds.). Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias. 2a. ed. Editorial Universidad Autónoma de Campeche. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. Campeche Camp. pp. 261-268.*
- Botello A.V., Ponce V.G., y Macko S.A. 1996. Niveles de concentración de hidrocarburos en el Golfo de México, p. 225-253. *In: A.V.Botello, J.L. Rojas-Galaviz, J.A. Benitez, D. Zárate-Lomeli (Eds). Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental:Diagnóstico y Tendencias. Universidad Autónoma de Campeche. Epomex serie Científica, 5. 666p.*
- Burns K. A., and Codi S. 1998. Contrasting impacts of localized versus catastrophic oil spills in mangrove sediments. *Mangrove and Salt Marshes*, 2: 63-74.
- Burns K.A., and Teal J.M. 1979. The West Falmouth oil spill: hydro-carbons in the salt marsh ecosystem. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 8: 349-360.
- Black K.D., and Shimmiel G.B. 2003. Biogeochemistry of Marine Systems. Black Well Publishing Ltd, Boca Raton, USA. 372 p.
- Brady C.N., and Weil R.R. 2008. The Nature and Properties of soils. Pearson Prentice Hall. New Jersey, USA. 975 p.
- Bremner J. M., and Mulvaney C. S. 1982. Nitrogen total. *In: A. L. Page, R. H. Miller, & D. R. Keeney (Eds.). Methods of soil analysis. Part 2 (2nd ed). Agron. Monogr. (Vol. 9). Madison, WI: ASA and SSSA. pp: 595-624*
- Brimecombe J.M., de Leij F.A., and Lynch J.M. 2002. The effect of root exudates on rhizosphere microbial populations. *In: Pinton R., Varanini Z., and Nannipieri P. (Eds.). The Rhizosphere Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface. Marcel Dekker. New York. pp. 95-140.*
- Björklöf K., Salminen J., Sainio P., and Jørgensen K 2008. Degradation rates of aged petroleum hydrocarbons are likely to be mass transfer dependent in the field Article. *Environmental Geochemistry and Health*. 30:101-107.
- Cai Q.Y, Mo CH, Wua Q.T, Katsoyiannis A., and Zeng Q.Y. 2008. The status of soil contamination by semivolatile organic chemicals (SVOCs) in China: A review. *Science of the Total Environment*, 389: 209-224.
- Caldwell B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia*, 49: 637-644.

- Castillo-Rodríguez, F., Roldán M.D., Ruiz R., Blasco P.M., Huertas R.J., Caballero F.J., Moreno-Vivián D.C., y Luque-Romero M.M. 2005. *Biotecnología Ambiental*. Editorial Tébar. Madrid, España. 616 p.
- Cerón R. L., y Aristizábal G.F. 2012. Dinámica del nitrógeno y fosforo en suelos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIV: 285-295.
- CONABIO-CONANP. 2009. Mangle blanco (*Laguncularia racemosa*). Fichas de especies mexicanas. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Galindo LG (ed). México D.F. 5p.
- Coyne M. 2000. Microbiología del suelo: Un enfoque exploratorio. Paraninfo. Madrid, España. 416p.
- Chen C.R., Condrón L.M., Davis M.R., and Sherlock R.R. 2002. Phosphorus dynamics in the rhizosphere of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and radiata pine (*Pinus radiata* D. Don.). *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 487-499.
- Das S., De M., Ganguly D., Kanti M.T., Mukherjee A., KUMAR J.T., and Kuma D.T. 2012. Depth Integrated Microbial Community and Physico-Chemical Properties in Mangrove Soil of Sundarban, India. *Advances in Microbiology*, 2, 234-240.
- Das S., Ganguly D., Mukherjee A., Chakraborty S., and Kumar D.T. 2017. Soil Urease Activity of Sundarban Mangrove Ecosystem, India. *Advances in Microbiology*, 7: 617-632.
- Daly G.L., Lei Y.D., Castillo L.E., Muir D.C.G., and Wania F. 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Costa Rican air and soil: A tropical/temperate comparison. *Atmospheric Environment*, 41: 7339-7350.
- DeLaune R.D., Hambrick G.A., and Patrick Jr. W.H. 1980. Degradation of hydrocarbons in oxidized and reduced sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 11: 103-106
- Delgado J. G. 2006. Asfáltenos, Composición, Agregación, Precipitación. Laboratorio de formulación, interfaces reología y procesos. Universidad de los Andes. Facultad de Ingeniería química. Mérida Venezuela. 433p.
- Deubel A., and Merbach W. 2005. Influence of microorganisms on phosphorus bioavailability in soil. In: Buscot F y Varma A (Eds). *Microorganisms in soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer Berlin Heidelberg New York. pp: 177-191.
- Díaz P. G., Ruiz C. J. A., Medina G. G., Cano, G. M. A., y Serrano A. V. 2006. *Estadísticas Climáticas Básicas del Estado de Tabasco (Periodo 1961-2003)*. México: INIFAP. CIRGOC. Campo Experimental Cotaxtla. Libro Técnico Núm. 12

- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2013. Norma Oficial Mexicana NOM-138-SEMARNAT/SSA1-2012, Límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación. Secretaría del Medio Ambiente y recursos Naturales. México D.F. 16 p.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT 2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudio, muestreo y análisis. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D.F. 73 p.
- DOF (Diario Oficial de la Federación). 2001. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D.F. 85 p.
- Doran J.W. 2002. Soil health and global sustainability, translating science into practice. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 88: 119-127.
- Duke N. C., and Watkinson A. J. 2002. Chlorophyll-deficient propagules of *Avicennia marina* and apparent longer term deterioration of mangrove fitness in oil polluted sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 1269-1276
- Dyer K.R. 1996. Coastal and Estuarine Sediment Dynamics. John Wiley & Sons, UK, 358 p
- Ekundayo E., and Obuekwe O. 2000. Effects of an oil spill on soil physico-chemical properties of a spill site in a typical udipsamment of the Niger delta basin of Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, 60: 235–249
- Gajda A., and Martyniuk S. 2005. Microbial Biomass C and N and Activity of Enzymes in Soil under Winter Wheat Grown in Different Crop Management Systems. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14:159-163.
- García I.C. 2008. Enzimas del suelo y su importancia. Academia de Ciencias de la Región de Murcia. Registro Mercantil de Murcia. Columna. Camino Viejo de Monteagudo. Murcia, España. 234 p.
- Garza R. F., Ortiz P Y., Macías A B.C. y Coll D. 2008. Actividad biótica del suelo y la contaminación por hidrocarburos. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 4: 49-54.
- George T.S., Turner B.L., Gregory P.J., Cade-Menun B.J., and Richardson A.E. 2006. Depletion of organic phosphorus from Oxisols in relation to phosphatase activities in the rhizosphere. *European Journal of Soil Science*, 57: 47–57.

- Gianfreda L., and Ruggiero P. 2006. Enzyme activities in soil. In P.Nannipieri,K.Smalla (eds) Nucleic acids and proteins in soil. Series Soil Biology, 8 Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp: 257-311.
- Gong Z., Li P., Wilke B.M and Alef K. 2008. Effects of vegetable oil residue after soil extraction on physical-chemical properties of sandy soil and plant growth. *Journal of Environmental Sciences*, 20: 1458–1462.
- Gundlach R. E. 2018. Oil-related mangrove loss east of Bonny River, Nigeria. In: C. Makowski, & C. Finkl (Eds.), *Threats to Mangrove Forests Hazards, Vulnerability and Management* (pp. 267-321). Boca Raton: Springer International. USA.
- Gleason SM., Ewel KC. and Hue N. 2003. Soil redox conditions and plant-soil relationships in a Micronesian mangrove forest. *Est Coast Shelf Sci* 56:1065-1074.
- Hambrick, G.A., DeLaune, R.D., and Patrick Jr., W.H. 1980. Efect of Estuarine Sediment pH and oxidation reduction potential on microbial hydrocarbon degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 40: 365-369.
- Hawkesford M., Horst W., Kichey T., Lambers H., Schjoerring J., Skrumdsager M., and White P. 2012. Functions of Macronutrients. In: Marschner P (ed). Marschner´s Mineral Nutrition of Higher Plants. Third edition.Academic Press Elsevier. United States of America. pp: 135-187.
- Herrerías A. 2005. Fundamento para la historia del pensamiento económico. 5ta. Ed. Editorial Luminosa. México, D.F. 516p.
- Hoff R., Hensel P., Proffitt E., Delgado P., Shigenaka G., Yender R.Y., and Mearns A.J. 2002. Oil Spills in Mangroves. Planning & Response Considerations. National Oceanic And Atmospheric Administration (Noaa). Department of Commerce Washington. USA. 69p.
- Holguin G., Bashan Y., and Vazavez P. 2001. “The Role of Soil Microorganism in the Productivity, Conservation and Rehabilitation of Mangrove Ecosystem: An Overview,” *Biology of Fertile Soils*. 33: 265- 278.
- INEGI 2001. Síntesis de información geográfica del estado de Tabasco. México D.F.100p
- INPOFOS. 2003. Transformaciones de los nutrientes en el suelo. Informaciones agronómicas. Instituto de la potasa y el fosforo, 49:1- 6.
- Jean-Michel G., Aragno M, Matthey., and W. 2004. The Linving Soil. Fundamentals of Soil Science and Soil Biology.Science Publishers, Inc. New Hampshire USA. 602 p.
- Kang B.G., Kim W.T., Yun H.S., and Chang S.C. 2010. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnology Reports*. 4: 179-183.

- Kathiresan, K., and Qasim, S. Z. 2005. *Biodiversity of mangrove ecosystems*. New Delhi: Hindustan Pub. Corp.
- Ke, L., Yu, K. S. H., Wong, Y. S., y Tam, N. F. Y. (2005). Spatial and vertical distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove sediments. *Science of the Total Environment*, 340(1-3), 177-187.
- Kisic I., Mesic S, Basic F., Brkic V., Mesic M, Durn G., Zgorelec Z., and Bertovic L. 2009. The effect of drilling fluids and crude oil on some chemical characteristics of soil and crops. *Geoderma*, 149: 209-216.
- Labud V., Garcia C., and Hernandez T. 2007. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil. *Chemosphere*, 66: 1863-1871.
- Leahy J.G., and Colwell R R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological Reviews*, 54: 305–315.
- Lewis R.R. 2005. Ecological engineering for successful management and restoration of mangrove forests. *Ecology Engineering*, 24: 403-418.
- Liao C, Liang X, Lu G, Thai T, Xu W., and Dang Z. 2015. Effect of surfactant amendment to PAHs-contaminated soil for phytoremediation by maize (*Zea mays* L.). *Ecotoxicology Environment Safety*, 112:1-6.
- Lin Q., and Mendelsohn I A. 1996. A comparative investigation of the effects of Louisiana crude oil on the vegetation of fresh, brackish, and salt marsh. *Marine Pollution Bulletin*, 32: 202–209.
- Little ID., Holtzmann K., Gundlach RE., and Galperin Y. 2018. Sediment Hydrocarbons in Former Mangrove Areas, Southern Ogoniland, Eastern Niger Delta, Nigeria. In: Christopher Makowski y Charles W. Finkl (eds). *Threats to Mangrove Forests Hazards, Vulnerability, and Management*. Springer International Publishing AG, Boca Raton, FL, USA. pp: 323-342.
- Liu R., Xiao, N., Wei S., Zhao L., and An J. 2014. Rhizosphere effects of PAH-contaminated soil phytoremediation using a special plant named Fire Phoenix. *Science of the Total Environment*, 473-474: 350-358
- Li X.Y., Du G., Wu Z., Li H., and Sui H. 2012. Solvent extraction for heavy crude oil removal from contaminated soils. *Chemosphere*, 88:245-249.
- López P. J. y Ezcurra E. 2002. Los manglares de México: una revisión. *Madera y Bosques*, 8 Es1: 27-51.

- Lunstrum, A., and Chen, L. 2014. Soil carbon stocks and accumulation in young mangrove forests. *Soil Biology Biochemistry*, 75: 223e232.
- McLanen A.D. 1963. Enzyme Activity in Soils Sterilized by Ionising Radiation and Some Comments on Microenvironments in Nature. In Gibbons, N.E. (Ed.), *Recent Progress in Microbiology* (Vol.8, 221-229). Toronto USA: University of Toronto Press.
- Ma L., Chu S., Cheng H., Wang X., Liu X., and Xu X. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons contamination in subsoil from outskirts of Beijing, People's Republic of China. *Geoderma*, 129: 200-210.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., y Stahl, D. A. 2015. *Brock. Biología de los microorganismos* (14a. edición). Pearson Educación. Madrid, España. 1099 p.
- MAE (Ministerio del Ambiente del Ecuador) y FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, IT). 2014. *Árboles y Arbustos de los Manglares del Ecuador*. Quito. Ecuador. 48p.
- Maier M.R. 2015. Biogeochemical Cycling. *In: pepper L.I., Gerba P.Ch and Gentry J.T (Eds). Environmental Microbiology*. Academic Press Elsevier. San Diego CA.USA. pp: 339-373.
- Maletić S.P., Dalmacija B.D., Rončević S.D., Agbaba J.R., and Ugarčina P.S.D. 2011. Impact of hydrocarbon type, concentration and weathering on its biodegradability in soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 46: 1042-1049.
- Maliszewska B.K., Smreczak B., and Klimkiewicz A. 2009. Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *Science of Total Environment*, 407: 3746-3753.
- Marchand C., Lallier-Vergès E., and Baltzer F. 2003. The composition of sedimentary organic matter in relation to the dynamic features of a mangrove-fringed coast in French Guiana. *Est Coast Shelf Sci*, pp: 56:119-130
- Marschner P 2012. Rhizosphere Biology. *In: Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Marschner P (ed). 3rd ed. Academic Press Elsevier. San Diego CA USA. pp: 369-388.
- McCarty G.W. and Bremner J.M. 1991. Production of urease by microbial activity in soils under aerobic and anaerobic conditions. *Biology and Fertility of Soil*, 11, 228-230.
- McGill W. B. 2007. The physiology and biochemistry of soil organisms. In: E. A. Paul (Ed.), *Soil microbiology, ecology, and biochemistry*. Academic Press Elsevier. Burlington, USA. pp: 231-256.

- Mehrasbi M. R., Haghghi B., Shariat M., Naseri S., y Naddafi K. 2003. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil. *Iranian Journal of Public Health*, 32: 28-32.
- Meza-Ramírez J. Y., Rico-Cerda j., Ruiz-Nájera R.E., Sánchez –Yáñez J.M. 2016. Bioestimulación de suelo contaminado con 40000 ppm de aceite residual automotriz y fitorremediación con *Cicerarietinum* y *Burkholderia cepacia*. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 7: 75-85
- Morales-Guzmán G., Ferrera-Cerrato R., Rivera-Cruz MC., Torres-Bustillos LG., Arteaga-Garibay RI., Mendoza-López MR., Esquivel-Cote R., and Alarcón A. 2017. Diesel degradation by emulsifying bacteria isolated from soils polluted with weathered petroleum hydrocarbons. *Applied Soil Ecology*, 121: 127-134
- Morales G.J. 2013. Evaluación de la producción y calidad de pimiento (*Capsicum annuum* L.) cv ‘Cannon’ obtenido mediante biofertilización”. Tesis Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. Santiago de Querétaro, Querétaro. 70 p.
- Mohn, W.W., and Stewart, G.R. 2000. Limiting factors for hydrocarbon biodegradation at low temperature in Arctic soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 32:1161-1172.
- Mohsenzadeh F., Abdolkarim Ch. R., and Mehrangiz A. 2012. Evaluation of oil removal efficiency and enzymatic activity in some fungal strains for bioremediation of petroleum-polluted soils. *Iranian Journal of Environmental Health Sciences & Engineering*. 9:26: 1-8.
- Moore S.F., and Dwyer R.L. 1974. Effects of oil on marine organisms: a critical assessment of published data. *Water Research*, 8:819-827
- Morillo E., Romero AS., Madrid L., Villaverde J., and Maqueda C. 2008. Characterization and Sources of PAHs and Potentially Toxic Metals in Urban Environments of Sevilla (Southern Spain). *Water Air Soil Pollution* .187: 41-51
- Muratova Y. A., Golubev N. S., Dubrovskaya V. E., Pozdnyakova N. N., Panchenko V. L., Pleshakova V. E., Chernyshova P. M., and Turkovskaya V. O. 2012. Remediating abilities of different plant species grown in diesel-fuel-contaminated leached chernozem. *Applied Soil Ecology*, 56:51-57.
- Nannipleri P., Ceccanti B., and Grego, S. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. *In: Bollag, J.-M., G. Stotzky, G., (Eds.), Soil Biochemistry, Vol 6. Marcel Dekker., New York, pp: 293-355.*
- Nehl B.D., and Knox G.G. 2006. Significance of bacteria in the rhizosphere. *In: Microbial activity in the rhizosphere. Mukerji K.G., Manoharachary C., Singh J (Eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. pp: 90-119.*

- Nelson D.W., and Sommers L.E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter: *In*: Page A.L., Miller R.H., and Keeney D.R (eds). *Methods of soil analysis. Part 2 Chemical and Microbiological Properties*, pp: 539-579.
- Neumann G and Römheld V. 2012. Rhizosphere chemistry in relation to plant nutrition. *In*: Marschener P (Ed). *Mineral Nutrition of Higher Plants. Third edition*. Elsevier. San Diego CA. USA. pp: 347-368
- Odokuma L.O. and Dickson A.A. 2003. Bioremediation of a Crude Oil Polluted Tropical Mangrove Environment. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 7: 23-29.
- Olguín E.J., Hernández M.E. y Sánchez-Galván G. 2007. Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y restauración. *Rev. Internacional de contaminación ambiental*. 23: 139-154.
- Olsen S.R., and Sommers L.E. 1982. Phosphorus. *In*: Page, A.L., Miller, R.H. and Keeny, D.R. (eds.). *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. 2nd ed. ASA. SSSA, USA. pp. 403-430.
- Orihuela B.D.E., Tovilla C.H.C., Vester M.F.R., y Álvarez L.T. 2004. Flujo de materia en un manglar de la costa de Chiapas, México. *Madera y Bosques*, 2:45-61.
- Orocio 2014. Evaluación de los hidrocarburos del petróleo intemperizado en Histosol de un manglar en La Venta, Tabasco. México. Tesis de Licenciatura Químico Farmacéutico Biólogo. Universidad Popular de la Chontalpa. H. Cárdenas, Tabasco, México. 61 p.
- Osland M.J., Spivak A.C., Nesterode J.A., Lessman J.M., and Almario, A.E., 2012. Ecosystem development after mangrove wetland creation: plant-soil change across a 20-year chronosequence. *Ecosystem*, 15: 848-866.
- Osuji L.C., Egbuson E.J., and Ojinnaka C.M. 2006. Assessment and treatment of hydrocarbon inundated soils using inorganic nutrient (NPK) supplements: II. A case study of Eneka oil spillage in Niger Delta, Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, 115(1): 265-278.
- Paolini J., and L.E. Sánchez-Arias. 2008. Comparative biochemical study of the rhizosphere of *Rhizophora mangle* and its associated species *Cyperus* sp. in the Ciénaga de Soledad (Colombia). *Tasks Veg. Sci.* 43: 79-84
- Pascual J.A., Hernández T., García C. and Ayuso M. 1998. Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic wastes: Laboratory experiment. *Bioresour- ce Technology*, 64: 131-138.

- Pezeshki S.R., Hester M.W., Lin C.Q., and Nyman A. J. 2000. The effects of oil spill and clean-up on dominant US Gulf coast marsh macrophytes: a review. *Environmental Pollution*, 108:129-139.
- Philippot L., Hallin, S., Bøjesson. G and Baggs E.M. 2009. Biochemical cycling in the rhizosphere having an impact on global change. *Plant Soil*, 321: 61-81.
- Pilipović A., Orlović S., Katanić M., Simeunović J., Pekeč S., and Matavuly M. 2014. Phosphatase activity as a parameter for assessment of the rhizodegradation potential of poplar clones: Greenhouse dose response experiment of phytoremediation of oil contaminated soil. *Biologija Servia*, 36 (1-2): 55-64.
- Pinck L.A., and Allison, F.E. 1961. Adsorption and Release of Urease by and from Clay Minerals. *Soil Science*, 91: 183-188.
- Piotrowska-Długosz A. and Wilczewski E. 2014. Assessment of soil nitrogen and related enzymes as influenced by the incorporation time of field pea cultivated as a catch crop in Alfisol. *Environmental Monitore Assess*, 186:8425-41
- Porta C.J., López-Acevedo, R.M., y Roquero L.C. 2003. Edafología para la Agricultura y el Medio Ambiente. 3ª ed. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 240 p.
- Proffitt E. C., and Devlin, D. J. 1998. Are there cumulative effects in red mangroves from oil spill during seedling and sapling stages?. *Ecological Applications*, 8: 121-127.
- Purnobasuki H., and Suzuki M. 2005. Functional Anatomy of Air Conducting Network on the Pneumatophores of a Mangrove Plant, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Asian Journal of a Mangrove Science*, 4: 334-347.
- Quirós-Rodríguez J. A., Medrano-Mangones W., y Santafé-Patiño G. G. 2017. Esponjas (Porifera: Demospongiae) de raíces sumergidas de *Rhizophora mangle* en la bahía de Cispatá, Córdoba, Caribe colombiano. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88: 80-85.
- Quyum A., Achari G., and Goodman R. 2002. Effect of wetting and drying and dilution on moisture migration through oil contaminated hydrophobic soils. *Science of the Total Environment*, 296: 77-87.
- Ramírez M.M.G. 2012. Estado fenológico temprano de frijol *Vigna unguiculata* L (Walp) Bacterias y actividad enzimática: Indicadoras de toxicidad del petróleo intemperizado. Tesis de Maestría en Producción Agroalimentaria en el Trópico. Colegio de Postgraduados. H. Cárdenas, Tabasco. 140 p.

- Ray R., Ganguly D., Chowdhury C., Dey M., Das S., Dutta M.K., Mandal S.K., Majumder N., De T.K., Mukhopadhyay S.K., and Jana T.K. 2011. Carbon sequestration and annual increase of carbon stock in a mangrove forest. *Atmos. Environmental*, 45: 5016-5024
- Revsbech N.P., Pedersen O., Reichardt W., and Briones A. 1999. Microsensor analysis of oxygen and pH in the rice rhizosphere under field and laboratory conditions. *Biology Fertility of Soils*, 29, 379-385.
- Richards A.L. 1985. Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Ed. Limusa. México D.F. 172 p.
- Richardson A.E., George T.S., Hens M., and Simpson R.J. 2005. Utilization of soil organic phosphorus by higher plants. *In*: B.L.Turner.A.E. Frossard and D.S. Baldwin (eds). *Organic Phosphorus in the Environment*. CAB International, Cambridge, MA. USA. pp: 165-184.
- Rico-Gray V. 1981. *Rhizophora harrisonii* (Rhizophoraceae) un nuevo registro para las costas de México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 41:163-166.
- Rivera-Cruz, M.C., Ferrera-Cerrato, R., Sánchez- García, P., Volke-Haller, V., Fernández-Linares, L., y Rodríguez-Vázquez, R. 2004 Descontaminación de suelos con petróleo crudo mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán [*Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc.]. *Agrociencia*, 38:1-12.
- Rivera-Cruz MC. 2011. Flora y microflora rizosférica del pantano: Indicadoras de perturbación causada por petróleo e inundación. *Agroregión*, 5: 12-15.
- Rivera-Cruz MC., Maldonado-Chávez ME and Trujillo-Narcía. 2012. Effects of crude oil on the growth of *Brachiaria mutica* and *Leucaena leucocephala* and on soil and plant macronutrients. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15 SUP 2: S30-S39.
- Rivera-Cruz MC, Trujillo-Narcía A., Trujillo-Rivera EA. Alfredo Arias-Trinidad A., y Mendoza-López MR. 2016. Natural attenuation of weathered oil using aquatic plants in a farm in Southeast Mexico. *International Journal of Phytoremediation*, 18: 9, 877-884.
- Riveroll-Larios J., Escalante-Espinosa E., Fócil-Monterrubio RL and Díaz-Ramírez IJ. 2015. Biological Activity Assessment in Mexican Tropical Soils with Different Hydrocarbon Contamination Histories. *Water Air Soil Pollut*, 226: 353.
- Rodríguez F. H y Rodríguez AJ. 2011. Métodos de Análisis de suelos y plantas Criterios de interpretación. Editorial Trillas. México D.F. 239p.

- SAS (Statistical Analysis Systems). 2005. Users Guide, Version 9.1.3. Cary (NC): SAS Institute, Inc.
- Sharma S., Karl H., and Schloter M. 2006. Genomic analyses of microbial processes in biogeochemical cycles. *In: Molecular Approaches to Soil, Rhizosphere and Plant Microorganism Analysis*. CAB International. London, UK. pp: 1-18.
- Shukry M.W., Al-Hawas S.H.G., Al-Moaikal S.Ms, and El-Bendary A.M. 2013. Effect of Petroleum Crude Oil on Mineral Nutrient Elements, Soil Properties and Bacterial Biomass of the Rhizosphere of Jojoba. *British Journal of Environment & Climate Change*, 3: 103-118.
- Smoak J.M., Breithaupt J.L., Smith T.J., and Sanders C.J. 2013. Sediment accretion and organic carbon accumulation relative to sea-level rise and storm events in two mangrove forests in Everglades's national park. *Catena*, 104: 58-66.
- Speir T.W., and Ross D.J.1978. Soil phosphatase and sulphatase. *In: Burns, R.G. (Ed.), Soil Enzymes*. Academic Press, London, pp: 197-250.
- Spalding M., Blasco, F., y Field C. 1997. World Mangrove Atlas. The International Society for Mangrove Ecosystems, Okinawa, Japan. 178p.
- Soil Survey Staff. 2003. Keys to Soil Taxonomy by soil survey staff. 9th edition. United States Department of Agriculture (USDA). Natural Resources Conservation Service (NRCS). 9a. edition. Washington, D.C. U.S.A. 331 p.
- Sutton N.B., Maphosa F., Morillo J.A., Abu Al-Sous W., Langenhoff A.A., Grotenhutt A.A., Grotenhuist T., Rijnaarts H.H., and Smidt H. 2013. Impact of long-term diesel contamination on soil microbial community structure. *Applied and Environmental Microbiology*, 79: 619-630.
- Tabatabai M.A., and Bremmer J.M. 1972. Assay of urease activity in soil. *Soils Biology and Biochemistry*, 9:9-13.
- Tabatabai M.A., and Bremmer J.M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1: 301-307.
- Tabatabai M.A. 1994. Soil Enzymes. *In: R.W. Weaver, S. Angle & P. Bottomley (Eds.). Methods of Soil Analysis: Microbiological and biochemical methods Book Series: 5. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, EEUU. pp: 775-883.*
- Tam N. Y., Wong W. Y. T., and Wong Y. S. 2005. A case study on fuel oil contamination in a mangrove swamp in Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin*, 51(8-12):1092-1100
- Trasar C.C., Gil S.F., y Leirós P.M.C. 2003. Determinación de la actividad fosfatasa del suelo. En: Garcia C., Gil F., Hernández T., Trasar C (Eds). Técnicas de análisis de parámetros

- bioquímicos en suelos. Medidas de Actividad enzimáticas y biomasa microbiana. Mundi-Prensa. Madrid, España. pp: 52-76.
- Tomlinson P.B. 2016. The Botany of Mangroves. Second Edition. University, Printing House, Cambridge. United Kingdom. 13 p.
- USEPA-3540C 1996. Soxhlet extraction organics. SW-846 test methods for evaluating solid waste physical/chemical methods. <http://www.epa.gov/waste/s/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3540c.pdf> [accessed 2012 Jun 20].
- Valderrama L.L.H., Rodríguez Z.M.T., Troche S.C., Velázquez S.S., Vellegas Ch.E., Alcantar S.A, Vázquez B.B., Cruz L.M.I y Ressi R. 2015. Manglares de México actualización y exploración de los datos del sistema de Monitoreo 1970/1980-2015. Comisión Nacional para el conocimiento de la biodiversidad (CONABIO). México D.F. 125 p.
- Ying W., Jiang F., Qianxin L., Xianguo L., Xiaoyu W., and Guoping W. 2013. Effects of Crude Oil Contamination on Soil Physical and Chemical Properties in Momoge Wetland of China. *Chin. Geogra. Sci*, 23: 708-715
- Yuan L., Zhang J., Shen Ch., Ren H., Liu H and Liu K. 2014. Quantification of Soil Organic Carbon Storage and Turnover in Two Mangrove Forests Using Dual Carbon Isotopic Measurements. Faridah-Hanum I., Latiff A., Rehman HK and Ozturk M (eds). Mangrove Ecosystems of Asia. Status, Challenges and Management Strategies. Springer. New York Heidelberg Dordrecht London. USA. pp: 257-271
- Wang X., Feng J., and Zhao J. 2010. Effects of crude oil residuals on soil chemical properties in oil sites, Momoge Wetland China. *Environ Monit Assess*, 161:271-280.
- Wang Z., Yang C., Kelly-Hooper F., Hollebone B.P., Peng X., Brown C.E., Landriault M., Sun J., and Yang Z. 2009. Forensic differentiation of biogenic organic compounds from petroleum hydrocarbons in biogenic and petrogenic compounds crosscontaminated soils and sediments. *Journal of Chromatography*, 1216:1174-1191.
- Wilcke W. 2007. Global patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. *Geoderma*, 141: 157-166.
- Wilcke W., Krauss M., Safronov G., Fokin A.D., and Kaupenjohann M. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils of the Moscow Region - Concentrations, temporal trends and small scale distribution. *Journal of Environmental Quality*, 34: 1581-1590.
- Wuaquier J.P. 2004. El refinado del petróleo. Petróleo crudo, Productos petrolíferos, Esquemas de fabricación. Ediciones Díaz de Santos. Madrid España. 467 p
- Wyszkowska J., Kucharski J., and Lajsner W. 2005. Enzymatic activities in different soils contaminated with copper. *Polish Journal Environmental Studies*, 14: 659-664.

Zhang J., Cai, L., Yuan, D., and Chen, M. 2004. Distribution and sources of polynuclear aromatic hydrocarbons in mangrove superficial sediments of Deep Bay, China. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 479-486.