



**Biorremediación de suelos contaminados con glifosato -review**

Valentina Alvarez Florez

Trabajo de Grado para optar al título de Magister en Ciencias Naturales y Matemática

Director

Ph. D Margarita Enid Ramírez Carmona

Doctora en Tecnología de Procesos Químicos y Bioquímicos

Universidad Pontificia Bolivariana

Escuela de ingeniería

Centro de Ciencias Básicas

Maestría en Ciencias Naturales y Matemática

Medellín

2024

**DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD.**

Medellin, mayo 24 de 2024

Valentina Álvarez Flórez

“Declaro que este trabajo de grado no ha sido presentado con anterioridad para optar a un título, ya sea en igual forma o con variaciones, en esta o en cualquiera otra universidad”.  
Art.92, parágrafo, Régimen Estudiantil de Formación Avanzada.

Valentina Álvarez Flórez

c.c 1027891537

## **DEDICATORIA**

Dedico mi tesis a Dios por darme fuerzas y guiarme para culminar esta meta.

A mis padres, quienes han sido mis inquebrantables pilares de apoyo a lo largo de mi trayectoria académica. Con mucho amor a mi madre.

A mi hermano, gracias por su apoyo.

Esta tesis está dedicada a todos aquellos que han formado parte de mi carrera académica.

## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a todos aquellos que han contribuido a la realización exitosa de esta tesis.

Primero a mi asesora la Ph. D Margarita Enid Ramírez Carmona por su orientación, apoyo y experiencia durante todo el proceso. Su profundo conocimiento en el campo de la biorremediación ha sido fundamental para dar forma a mi investigación y fomentar mi crecimiento intelectual.

Extiendo mi más sincero agradecimiento al cuerpo docente y a la Universidad Pontificia Bolivariana. Su dedicación a la enseñanza y la investigación ha sido una fuente constante de inspiración a lo largo de mis estudios, y me ha proporcionado una valiosa visión del mundo académico.

Agradezco a mis colegas y compañeros de posgrado por su apoyo a lo largo de este viaje, han hecho esta experiencia académica aún más gratificante.

Mi más sincero agradecimiento a mi familia y amigos por su amor, aliento y comprensión durante este proceso académico.

Por último, me gustaría agradecer a todos los investigadores, académicos y autores cuyas contribuciones y conocimientos han dado forma a esta tesis. Sus trabajos han servido como base sobre la que se ha construido esta investigación.

Esta tesis no habría sido posible sin los esfuerzos colectivos, la orientación y el apoyo de las personas e instituciones mencionadas anteriormente.

Gracias a todos.

## TABLA DE CONTENIDO

Resumen.....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
1. Glifosato.....	12
2. Biorremediación.....	24
2.1 Generalidades.....	24
2.2 Biorremediación de suelos.....	26
2.2.1 Técnicas.....	26
2.2.1.1 In situ.....	27
2.2.1.2 Ex situ.....	29
2.2.2 Operaciones de biorremediación.....	31
2.2.2.1 Bioaumentación.....	31
2.2.2.2 Bioestimulación.....	36
2.2.2.3 Bioventilación.....	38
2.2.3 Condiciones operacionales.....	43
2.2.3.1 Nutrientes.....	44
2.2.3.2 pH.....	44
2.2.3.3 Temperatura.....	45
2.2.3.4 Humedad.....	46
2.2.3.5 Concentración de contaminantes.....	46
2.2.3.6 Inóculo.....	47
2.2.3.7 Adjuntos.....	48
2.3 Microorganismos que intervienen en la biorremediación.....	48
2.4 Biorreactores.....	50
2.4.1 Biorreactor tipo tanques agitados.....	51
2.4.2 Biopila.....	53
2.4.3 Landfarming / el cultivo de la tierra.....	55
3. Biorremediación de glifosato en suelos.....	58
Bibliografía.....	74

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Mecanismo de acción del glifosato .....	15
<b>Figura 2.</b> . Los efectos negativos causados por los residuos del glifosato. ....	17
<b>Figura 3.</b> Ventajas que presenta el proceso de biorremediación.....	25
<b>Figura 4.</b> Biopila. ....	55
<b>Figura 5.</b> Sistema típico de landfarming. ....	57
<b>Figura 6.</b> Distribución de glifosato en suelos.....	60
<b>Figura 7.</b> Principales vías de biodegradación del glifosato por microorganismos .....	62

**LISTA DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Propiedades químicas y físicas del glifosato .....	13
<b>Tabla 2.</b> Estudios de biorremediación empleando bioaumentación .....	35
<b>Tabla 3.</b> Estudios de biorremediación empleando bioestimulación .....	38
<b>Tabla 4.</b> Forma de suministrar aire al proceso de biorremediación.....	41
<b>Tabla 5.</b> Microorganismos empleados en la biorremediación del glifosato. ....	67

### Resumen

El glifosato, un herbicida ampliamente utilizado en la agricultura convencional y en cultivos genéticamente modificados, ha suscitado preocupación por su persistencia en los ecosistemas y su impacto nocivo en diversos componentes del medio ambiente. El uso indiscriminado de glifosato ha llevado a su persistencia prolongada en el suelo y el agua, lo que plantea amenazas a las plantas no objetivo, a los organismos autótrofos del suelo, así como a la salud humana y animal. En respuesta a estos desafíos, la biorremediación ha surgido como un enfoque prometedor y sostenible para mitigar las consecuencias ambientales de la contaminación por glifosato. Este trabajo ofrece una revisión integral de la biorremediación del suelo, con un enfoque específico en el glifosato, y ofrece información sobre técnicas, operaciones, condiciones operacionales y microorganismos implicados en el proceso de degradación. Además, el trabajo presenta una propuesta para la biorremediación de suelos contaminados con glifosato, haciendo hincapié en la relevancia de los microorganismos para facilitar el tratamiento de estos entornos. Mediante la exploración de estrategias de biorremediación, este trabajo pretende contribuir al desarrollo de soluciones minimizando los impactos ambientales para hacer frente a los retos que plantea la contaminación por herbicidas.

*Palabras claves:* biorremediación, contaminación, glifosato, microorganismos.



### **Abstract**

Glyphosate, a widely used herbicide in conventional agriculture and genetically modified crops, has raised concerns about its persistence in ecosystems and its harmful impact on various components of the environment. Indiscriminate use of glyphosate has led to its prolonged persistence in soil and water, posing threats to non-target plants, soil autotrophic organisms, as well as human and animal health. In response to these challenges, bioremediation has emerged as a promising and sustainable approach to mitigate the environmental consequences of glyphosate contamination. This paper provides a comprehensive review of soil bioremediation, with a specific focus on glyphosate, and provides information on techniques, operations, operational conditions and microorganisms involved in the degradation process. In addition, the paper presents a proposal for the bioremediation of glyphosate-contaminated soils, emphasising the relevance of microorganisms in facilitating the treatment of these environments. By exploring bioremediation strategies, this work aims to contribute to the development of solutions minimising environmental impacts to address the challenges posed by herbicide contamination.

*Keywords:* bioremediation, contamination, glyphosate, microorganisms.

## Introducción

El tamaño del mercado de herbicidas se estima en 42.810 millones de USD en 2024 y se espera que crezca hasta 55.090 millones de USD en 2029, con una tasa compuesta anual del 5,17% durante el periodo de previsión (2024-2029) (Mordor Intelligence, 2024b). América del Sur domina este mercado, con un tamaño estimado de 18.420 millones de USD en 2024, que se espera crezca hasta los 23.870 millones de USD en 2029, con una tasa compuesta anual del 5,32% durante el periodo de previsión (2024-2029)) (Mordor Intelligence, 2024c).

El mercado de herbicidas en América del Sur está experimentando un crecimiento en varios países, como Argentina, Brasil, Chile y el resto del continente (Mordor Intelligence, 2024b). En 2019, los herbicidas más utilizados en Brasil fueron el glifosato, el 2,4-D, la atrazina, el paraquat y el diurón, que representaron el 62%, 15%, 7%, 5% y 2% del uso total, respectivamente (Merotto et al., 2022). El glifosato es un herbicida utilizado en todo el mundo, empleado en más de 160 países (Mordor Intelligence, 2024a). Se prevé que el tamaño del mercado del mismo alcance los 13.110 millones de dólares en 2029, creciendo a una tasa compuesta anual del 7,49% durante el periodo de previsión (2024-2029) desde los 9.140 millones de dólares estimados en 2024 (Mordor Intelligence, 2024a).

El glifosato es un fosfonato sintético y es ingrediente activo de los herbicidas a base de glifosato (Háhn et al., 2022). Este inhibe la síntesis de aminoácidos aromáticos esenciales en las plantas al interferir con la 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una enzima clave de la vía del shikimato, causando en última instancia la muerte de la planta (Háhn et al., 2022). El glifosato se utiliza principalmente en la agricultura para controlar las malas hierbas que limitan el crecimiento de los cultivos tradicionales y para garantizar la producción y el rendimiento de los cultivos modificados genéticamente que son resistentes al glifosato (Benbrook, 2016). Además, se utiliza en silvicultura, en el control de malezas industriales y jardines (Covaci, 2014).

El empleo de glifosato ha aumentado debido a la mayor aplicación en los cultivos modificados genéticamente y convencionales para controlar las malas hierbas limitantes en

estos ecosistemas agrícolas. A medida que aumentan las tasas de aplicación de glifosato en los campos agrícolas, la disipación y la degradación se producen más lentamente de lo previsto originalmente. Esto hace que los residuos de glifosato se acumulen en el suelo y en los cuerpos de agua, lo que se traduce en un aumento de las trazas en los productos vegetales y en daños potenciales para los animales (Cuhra et al., 2016; van Bruggen et al., 2021).

El glifosato puede persistir en las plantas, el suelo y el agua durante periodos prolongados. Como resultado, la presencia de glifosato libre en el suelo puede alterar la composición de la comunidad microbiana, en particular la actividad de los microorganismos de la rizosfera. La aplicación repetida de glifosato puede disminuir el potencial de degradación de los microorganismos autóctonos (Guo et al., 2022). Además, pueden producirse cambios en los procesos microbianos, especialmente si están presentes genes que codifican enzimas relacionadas con la degradación del herbicida (Pileggi et al., 2020).

En el suelo, el glifosato es descompuesto principalmente por bacterias y hongos. Se han identificado y estudiado cepas bacterianas y fúngicas que pueden utilizar el glifosato como fuente de fósforo o menos comúnmente de carbono o nitrógeno en su metabolismo (Singh & Walker, 2006). Aunque muchos estudios han informado sobre especies bacterianas y fúngicas capaces de degradar el glifosato, solo algunos han explorado estrategias de tratamiento para suelos contaminados con glifosato (Castrejón-Godínez et al., 2021).

La biorremediación con especies microbianas es una estrategia prometedora para remediar los suelos afectados por el glifosato. Según Raffa & Chiampo, (2021) es más eficaz que los métodos físicos y químicos. Por lo tanto, la biorremediación es uno de los métodos biológicos para el tratamiento de lugares afectados por el uso indiscriminado de glifosato (Verma et al., 2014). Esta contribución positiva al suelo en entornos agrícolas puede promover agroecosistemas más sostenibles, garantizando la seguridad alimentaria de la población.

La remediación de ambientes contaminados con glifosato es un tema que requiere atención debido a los largos periodos de persistencia del herbicida. Por lo anterior en este trabajo se realizó una revisión de biorremediación de suelos, incluido el glifosato y una propuesta de biotratamiento para el mismo.

## 1. Glifosato

El glifosato fue descubierto por el químico Suizo Henri Martin en 1950, posteriormente en 1970, John. E. Franz de Monsanto realizó pruebas para iniciar su comercialización en 1974 como herbicida de post-emergente no selectivo (Castrejón-Godínez et al., 2021; Matozzo et al., 2020; Saunders & Pezeshki, 2015; Xiao et al., 2023; Xu et al., 2019; Zhan, 2018). Tras su introducción comercial, el glifosato se popularizó en el mercado en diversas formulaciones, como Roundup ® (Saunders & Pezeshki, 2015).

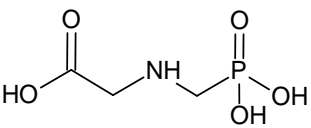
En 1996, la ingeniería genética introdujo el primer cultivo de soja Roundup Ready (*Glycine max*) genéticamente modificado, el cual fue resistente al herbicida, debido a un gen de la 5-enolpiruvil shikímico ácido-3-fosfato (EPSPS) sintasa de la cepa CP4 de *Agrobacterium* sp., que genera una enzima que no se ve afectada por el glifosato. Las principales estrategias de resistencia al glifosato en las malas hierbas son a través de dos mecanismos, el primero una mutación que modifica el sitio diana del glifosato (EPSP sintasa) o conduce a la sobreexpresión de EPSP sintasa; y el segundo a las alteraciones en los patrones de transporte y secuestro (Saunders & Pezeshki, 2015).

El glifosato es un herbicida organofosforado de amplio espectro con actividad no selectiva, post-emergente y sistémica (Cara et al., 2022; Giaccio et al., 2023; Guo et al., 2022; Korkmaz et al., 2021; Leyva-Morales et al., 2023; Matozzo et al., 2020; Mohy-Ud-Din et al., 2023; Nguyen et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023; S. Singh et al., 2019; Spinelli et al., 2021; Travaglia et al., 2015; Vázquez et al., 2021; Xu et al., 2019; Zhan, 2018; W. Zhang et al., 2022). Se emplea habitualmente como ingrediente activo para eliminar malas hierbas en áreas agrícolas, controlar la vegetación en áreas urbanas o industriales, y jardines domésticos (Castrejón-Godínez et al., 2021; Leyva-Morales et al., 2023; Mohy-Ud-Din et al., 2023; Saunders & Pezeshki, 2015; Spinelli et al., 2021; Travaglia et al., 2015; Xu et al., 2019; Zhan, 2018). Además, se emplea en sectores no agrícolas como la silvicultura, la ganadería y la horticultura debido a su estabilidad física y química, su alta eficacia y su bajo costo (Cara et al., 2022; Korkmaz et al., 2021; Leyva-Morales et al., 2023; Matozzo et al., 2020; Nguyen et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023; Spinelli et al., 2021; W. Zhang et al., 2022).

En la Tabla 1 se muestran las propiedades químicas y físicas del glifosato.

**Tabla 1.**

*Propiedades químicas y físicas del glifosato (Matozzo et al., 2020)*

Nombre	Glifosato
Otros nombres	<i>N</i> -fosfometilglicina [ <i>N</i> -fosfometil] glicina Sal de isopropilamina de <i>N</i> -fosfometilglicina)
Formula molecular	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P
Estructura química	
Peso molecular	169,07 g/mol
Estado físico y color	Polvo cristalino blanco
Punto de fusión	189,5 - 230°C
Densidad a 20°C	1,705
Solubilidad en agua a 25°C	1,2 g/100mL
Presión de vapor a 25°C	1,31X10 <sup>-2</sup> mPa

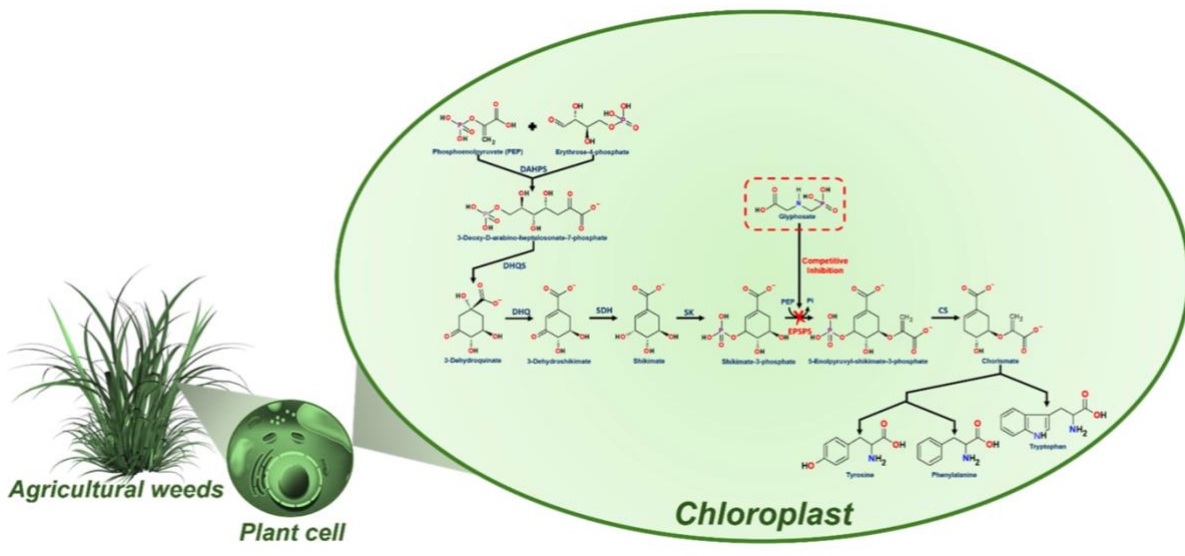
El glifosato ingresa en los organismos objetivo a través del contacto foliar y luego se difunde en la planta (Leyva-Morales et al., 2023; Saunders & Pezeshki, 2015). Posteriormente, se transporta a los sumideros metabólicos a través de la vía simplástica entrando en el floema (Matozzo et al., 2020; Saunders & Pezeshki, 2015). El glifosato también puede ser absorbido por las raíces y transportarse en el xilema de la planta a través de la vía apoplástica (Matozzo et al., 2020; Saunders & Pezeshki, 2015). La absorción del glifosato por las raíces se ha demostrado en varias especies de cultivos, como la remolacha azucarera, la cebada, el algodón, el maíz y la colza (Saunders & Pezeshki, 2015). Tanto en la absorción foliar como en la radicular, el glifosato puede ser transportado hacia las partes inferiores o superiores de la planta, distribuyéndose en tejidos sumideros como meristemas, flores y frutos (Saunders & Pezeshki, 2015). Las dosis de glifosato sugeridas para el campo oscilan entre 0,96 y 2,88 kg a.i/Ha (Vázquez et al., 2021).

En las plantas, el glifosato obstruye la vía del ácido shikímico al inactivar la enzima EPSPS (Castrejón-Godínez et al., 2021; González-Valenzuela & Dussán, 2018; Guo et al., 2022; Leyva-Morales et al., 2023; Martins et al., 2023; Masotti et al., 2023; Ogunbiyi et al., 2023; Rodríguez et al., 2019; Saunders & Pezeshki, 2015; S. Singh et al., 2019; Spinelli et al., 2021; Vázquez et al., 2021; Zhan, 2018) que cataliza el penúltimo paso de la vía (Matozzo et al., 2020); dicha enzima es indispensable para la producción de corismato a través de la ruta del ácido shikímico (Saunders & Pezeshki, 2015). El bloqueo de la enzima EPSPS inhibe la biosíntesis de aminoácidos aromáticos esenciales para el desarrollo de las plantas, entre ellos la fenilalanina, la tirosina y el triptófano (González-Valenzuela & Dussán, 2018; Leyva-Morales et al., 2023; Masotti et al., 2023; Matozzo et al., 2020; Ogunbiyi et al., 2023; Rodríguez et al., 2019; Saunders & Pezeshki, 2015; S. Singh et al., 2019; Spinelli et al., 2021), disminuyendo en consecuencia la producción de metabolitos secundarios como los flavonoides, la lignina y las fitoalexinas (Matozzo et al., 2020), y la síntesis de proteínas, lo que provoca clorosis y la muerte de la planta en un plazo de 1 a 3 semanas (Castrejón-Godínez et al., 2021; Guo et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023; S. Singh et al., 2019; Spinelli et al., 2021; Vázquez et al., 2021; Zhan, 2018).

En la Figura 1 se muestra el mecanismo de acción del glifosato.

**Figura 1.**

*Mecanismo de acción del glifosato a través de la inhibición de la vía del shikimato (Castrejón-Godínez et al., 2021).*



Enzimas implicadas en la vía, DAHPS: 3-Desoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintasa; DHQS: 3-deshidroquinato sintasa; DHQ: 3-deshidrosikimato deshidratasa; SDH: shikimato-5-deshidrogenasa; SK: shikimato quinasa; EPSPS: 5-enolpiruvil shikimato 3-fosfato sintasa; y CS: corismato sintasa (Castrejón-Godínez et al., 2021).

La velocidad de descomposición del glifosato en el suelo está influida por su composición mineral y orgánica, así como por la actividad microbiana y las condiciones climáticas (Masotti et al., 2023; Matozzo et al., 2020). En el suelo, los valores de vida media varían entre 1 y 180 días (Leyva-Morales et al., 2023; Torretta et al., 2018). Sin embargo, el glifosato perdura varios meses o hasta dos años en algunos casos (Guo et al., 2022; Matozzo et al., 2020; Torretta et al., 2018). Del mismo modo, la vida media de su principal metabolito, el ácido amino metil fosfónico (AMPA), permanece entre 119 y 985 días en el suelo (Leyva-Morales et al., 2023). Además, las investigaciones muestran que existe una elevación de 1 mg de glifosato por kg de suelo por cada 5 aplicaciones, lo que indica que los métodos actuales de gestión de los cultivos dan lugar a niveles que superan las tasas de disipación (Masotti et al., 2023).

En medios acuosos, la vida media del glifosato oscila entre unos pocos días y 91 días (Castrejón-Godínez et al., 2021; Martins et al., 2023; Saunders & Pezeshki, 2015; Torretta et al., 2018). Además, el glifosato se acumula en las aguas subterráneas durante periodos superiores a 4 años tras su lixiviación (Hernández-Alomia et al., 2022). Se calcula que la vida media del glifosato en el agua de mar es de  $47 \pm 7$  días a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  en condiciones de luz,  $267 \pm 21$  días a la misma temperatura en la oscuridad, y  $315 \pm 29$  días en la oscuridad a  $31\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Matozzo et al., 2020).

Los efectos de la exposición al glifosato suelen desarrollarse varios días después de la exposición. Visualmente, los síntomas de la exposición al glifosato incluyen clorosis de las hojas seguida de necrosis, arrugamiento y malformación de las hojas, así como necrosis meristemática (Saunders & Pezeshki, 2015).

En contacto con el agua, el glifosato se transforma rápidamente en su metabolito primario AMPA, manteniendo las mismas características tóxicas que su precursor. Además, el AMPA es aún más persistente, con una vida media que oscila entre 76 y 240 días (Torretta et al., 2018).

El AMPA tiene un efecto negativo en el medio ambiente debido a los toxicológicos derivados de la acumulación de residuos en la cadena alimentaria, pues el metabolito es persistente en el suelo, el agua y las plantas (Pileggi et al., 2020), posterior a su liberación (Cara et al., 2022; Castrejón-Godínez et al., 2021; Ogunbiyi et al., 2023). Además, el AMPA induce estrés oxidativo en animales, afecta la reparación de daños en el ADN y la síntesis de ARNm (Rodríguez et al., 2019).

Los efectos negativos causados por los residuos del glifosato se muestran en la Figura 2.



Figura 2. .

Los efectos negativos causados por los residuos del glifosato.



- **Efectos negativos causados por los residuos del glifosato en el suelo.**

El glifosato puede entrar en el suelo a través de varias vías, como la aplicación agrícola directa, la deriva de la pulverización, la escorrentía superficial, la exudación de las raíces y la descomposición de los residuos de las plantas tratadas (Giaccio et al., 2023). El glifosato se une a las partículas del suelo, entre las que se incluyen las arcillas y la materia orgánica (Castrejón-Godínez et al., 2021; S. Singh et al., 2019). Como resultado, la mayor parte de sus residuos (al menos el 90%) se encuentran en los 15 cm superiores del suelo (Castrejón-Godínez et al., 2021; Mohy-Ud-Din et al., 2023; Zhan, 2018). Esto indica que los residuos de glifosato son vulnerables a la erosión eólica y al transporte atmosférico (Castrejón-Godínez et al., 2021). Estos residuos pueden afectar negativamente a la actividad microbiana del suelo y a la absorción radicular de las plantas no objetivo, lo que en última instancia conduce a la acumulación de glifosato en el suelo a lo largo del tiempo (Castrejón-Godínez et al., 2021; Ogunbiyi et al., 2023; Spinelli et al., 2021).

- **Efectos negativos causados por los residuos del glifosato a los organismos habitantes de los suelos.**

Debido a su acumulación y persistencia en el suelo, el glifosato puede tener repercusiones en los microorganismos del medio natural (Castrejón-Godínez et al., 2021; Chávez-Ortiz et al., 2022; S. Singh et al., 2019; Zhan, 2018). Se ha informado de que el glifosato puede afectar a la actividad de los microorganismos del suelo implicados en el ciclo biogeoquímico, la mineralización de restos orgánicos, la inmovilización y solubilización de minerales y la degradación de xenobióticos (Castrejón-Godínez et al., 2021). Algunos estudios han demostrado cómo el glifosato puede afectar los ciclos de nutrientes, incluido el ciclo del Carbono, que experimenta cambios cuando se aplican dosis elevadas de glifosato (Chávez-Ortiz et al., 2022). Este efecto, se debe a un aumento de la cantidad de sustratos que la comunidad microbiana puede utilizar como fuente de Carbono, así como a un aumento de la actividad de la enzima B-glucosidasa (Chávez-Ortiz et al., 2022). Además, el uso de glifosato también puede afectar los ciclos de los nutrientes, como el Nitrógeno y el Fósforo (Chávez-Ortiz et al., 2022). Sin embargo, el impacto del glifosato sobre la actividad microbiana y sus

procesos metabólicos que afectan a los ciclos biogeoquímicos puede variar según el tipo de suelo (Chávez-Ortiz et al., 2022).

En algunos estudios se han notificado efectos adversos significativos en la comunidad microbiana, que han dado lugar a una disminución de la abundancia de especies de microorganismos, como *Pseudomonas fluorescens*, bacterias transformadoras del manganeso y bacterias productoras de ácido indolacético en el suelo de la rizosfera de la soja (He et al., 2023). En algunos casos, el glifosato puede reducir la abundancia de ciertas bacterias, como *Actinobacteria* y *Rhizobium* spp (W. Zhang et al., 2022). Sin embargo, en otros casos, puede aumentar la abundancia de ciertos miembros de *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Planctomycetes*, y *alphaproteobacteria* (He et al., 2023). Por el contrario, las concentraciones más elevadas de glifosato pueden tener una correlación muy negativa con determinadas bacterias y facilitar el aumento de hongos fitopatógenos en el suelo, lo que repercute negativamente en la salud de las plantas (Vázquez et al., 2021; Zhan, 2018). También se ha documentado una disminución de la tasa de reproducción, la biomasa y los daños en el ADN de las lombrices de tierra, junto con efectos negativos en otros pequeños organismos, como los nematodos, que se encuentran en el suelo (Castrejón-Godínez et al., 2021).

- **Efectos negativos causados por los residuos del glifosato en el agua y sus especies hospederas**

Se ha establecido que el glifosato es un compuesto considerablemente soluble en agua (Castrejón-Godínez et al., 2021). Como resultado, se identifica con frecuencia en aguas superficiales y sedimentos acuáticos proveniente de la escorrentía superficial, la deriva y el transporte vertical dentro del suelo (Castrejón-Godínez et al., 2021; Saunders & Pezeshki, 2015; Zhan, 2018). Además, se ha evidenciado glifosato en el agua de mar, transportado a través de la descarga submarina de aguas subterráneas, donde su persistencia es bastante alta (Castrejón-Godínez et al., 2021; Narayanan et al., 2023). Aunque el glifosato rara vez se encuentra en las aguas subterráneas, cuando se detecta, los niveles son extremadamente bajos (Saunders & Pezeshki, 2015). Un estudio realizado por la EPA durante seis años reveló que

el glifosato estaba presente en siete de las 27.877 muestras de aguas subterráneas analizadas, siendo la concentración más alta registrada de  $1,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  (Saunders & Pezeshki, 2015).

En los medios acuáticos, la concentración de glifosato puede agravar la eutrofización al aumentar la cantidad de fósforo total (Hernández-Alomia et al., 2022). Esto favorece el crecimiento y la producción de toxinas por parte de las cianobacterias, lo que provoca una disminución de la calidad del agua (Hernández-Alomia et al., 2022). Las investigaciones han detectado efectos adversos del glifosato en diversos organismos que residen en las masas de agua, como algas, helechos, protozoos, mejillones, ranas y peces (Castrejón-Godínez et al., 2021; S. Singh et al., 2019). Los anfibios, crustáceos y lombrices de tierra han mostrado niveles moderados de toxicidad en respuesta al glifosato (Castrejón-Godínez et al., 2021; S. Singh et al., 2019).

El glifosato presenta distintos niveles de toxicidad en función de los organismos analizados. En estudios de toxicidad aguda, el glifosato puede provocar la mortalidad de organismos acuáticos como *Daphnia magna* ( $\text{EC}_{50}$ : 40 mg/L), *Lepomis macrochirus* ( $\text{EC}_{50}$ : 47 mg/L) y trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* ( $\text{EC}_{50}$ : 38 mg/L) (Castrejón-Godínez et al., 2021). Se ha descubierto que la presencia de glifosato en el metabolismo de los peces puede provocar una alteración renal por sobreproducción de especies reactivas del Oxígeno y estrés oxidativo (Castrejón-Godínez et al., 2021). Además, las investigaciones sugieren que la exposición al glifosato puede provocar daños en el ADN y alteraciones cromosómicas en los peces (Castrejón-Godínez et al., 2021). Es importante señalar que el impacto del glifosato se extiende más allá de los organismos individuales, con pruebas de interacciones alteradas entre especies, como una mayor susceptibilidad de los peces a los parásitos (Castrejón-Godínez et al., 2021). Así lo corroboran varios estudios, por ello, se debería considerar cuidadosamente el uso del glifosato en la gestión de los ecosistemas.

- **Efectos secundarios del glifosato ocasionados en el seres humanos y ratones.**

Las investigaciones pertinentes han demostrado que la exposición a herbicidas, como el glifosato, pueden contribuir significativamente a la intolerancia al gluten, los problemas gastrointestinales y la alteración de la absorción de varios micronutrientes, como el hierro, el

cobalto, el molibdeno, el cobre y aminoácidos como el triptófano, la tirosina, la metionina y la seleno metionina (Castrejón-Godínez et al., 2021). Además, se ha establecido una relación entre la exposición a sustancias químicas como el glifosato y el linfoma no Hodgkin (Castrejón-Godínez et al., 2021; Torretta et al., 2018; W. Zhang et al., 2022). En concreto, un estudio descubrió que la exposición al glifosato en el lugar de trabajo aumenta el riesgo relativo de desarrollar linfoma de células B (Castrejón-Godínez et al., 2021).

Otros estudios han relacionado la exposición prolongada a herbicidas en poblaciones humanas con afecciones como alergias, asma, enfermedades cardiovasculares, trastornos cutáneos, problemas respiratorios, trastornos neurológicos, problemas reproductivos, enfermedades autoinmunes y enfermedades degenerativas crónicas como el mieloma múltiple (Hernández-Alomia et al., 2022; Leyva-Morales et al., 2023; Torretta et al., 2018; Xu et al., 2019). Además, se han observado daños en las células corioplacentarias humanas, lo que puede provocar el efecto secundario de una disminución de la síntesis de progesterona (Castrejón-Godínez et al., 2021). Investigaciones recientes indican que el glifosato puede tener efectos citotóxicos y genotóxicos, provocar un notable aumento del estrés oxidativo (Spinelli et al., 2021; Torretta et al., 2018), afectar a la vía estrogénica, repercutir negativamente en diversos procesos cognitivos y estar relacionado con la aparición de determinados tipos de cáncer (Castrejón-Godínez et al., 2021; Giaccio et al., 2023; Xu et al., 2019).

Basándose en informes recientes sobre los posibles efectos secundarios del glifosato, la Agencia para la Investigación del Cáncer (IARC), un departamento de la Organización Mundial de la Salud (OMS) con sede en Lyon, clasificó el glifosato como probablemente cancerígeno para los seres humanos en marzo de 2015. El glifosato se incluyó en la categoría 2A, que indica sustancias con pruebas limitadas de carcinogenicidad para los seres humanos y pruebas suficientes para los animales (Castrejón-Godínez et al., 2021; González-Valenzuela & Dussán, 2018; Ibrahim et al., 2023; Leyva-Morales et al., 2023; Mohy-Ud-Din et al., 2023; Rodríguez et al., 2019; Torretta et al., 2018; W. Zhang et al., 2022). La conclusión de la agencia sobre la investigación del herbicida fue la siguiente: las pruebas de que el glifosato causa cáncer en animales se consideraron suficientes y las pruebas de la genotoxicidad del producto (es decir, su capacidad para dañar el ADN) se consideraron sólidas (Torretta et al., 2018). Los estudios de laboratorio también han demostrado que el

glifosato tiene la capacidad de causar daños genéticos (Torretta et al., 2018). La peligrosidad del glifosato en humanos sigue siendo un tema de debate (Spinelli et al., 2021).

La Agencia para la Investigación del cáncer informó, que el glifosato induce una tendencia en la incidencia de carcinoma de túbulo renal y hemangio sarcoma en ratones macho (W. Zhang et al., 2022). Además, se determinó que el glifosato aumenta el adenoma de células de islotes pancreáticos en ratas macho (W. Zhang et al., 2022). También, el glifosato puede afectar el desarrollo embrionario de los animales al provocar cambios morfológicos (W. Zhang et al., 2022). Se ha demostrado que la administración de una dosis determinada de glifosato provoca una disminución del número de fetos y de la concentración de espermatozoides en múltiples estudios (W. Zhang et al., 2022). Además, el glifosato puede causar mutaciones cerebrales multifuncionales y obstaculizar el desarrollo óseo normal de las crías de rata hembra (W. Zhang et al., 2022).

La toxicidad del glifosato se ha evaluado en roedores mediante exposición oral a glifosato (Castrejón-Godínez et al., 2021). Sin embargo, los estudios en animales que utilizan formulaciones comerciales son limitados (Castrejón-Godínez et al., 2021). En animales, el impacto del glifosato por exposición oral depende de la dosis. La exposición aguda ( $\leq 14$  días) a 175 mg/kg/día provoca diarrea, mientras que la exposición intermedia (15 - 364 días) a concentraciones entre 300 y 460 mg/kg/día puede provocar diarrea, cambios citoplasmáticos en la glándula salival e incluso la muerte (Castrejón-Godínez et al., 2021). La exposición crónica ( $>365$  días) puede causar inflamación de la mucosa gástrica y cambios citoplasmáticos en la glándula salival. Estos efectos nocivos pueden extrapolarse a los seres humanos (Castrejón-Godínez et al., 2021).

Estos ejemplos aportan pruebas que sugieren que la presencia de residuos de glifosato en el medio ambiente tiene un impacto perjudicial sobre el ecosistema y el equilibrio ecológico (W. Zhang et al., 2022). Además, supone una amenaza potencial para la salud humana. Los estudios mencionados demuestran que el glifosato es altamente tóxico y constituye un peligro para la salud de los trabajadores agrícolas que han estado expuestos directamente a él, así como para los que han estado expuestos indirectamente a través del consumo de alimentos o agua que contienen trazas de residuos de glifosato (Castrejón-Godínez et al., 2021). En el marco de la creciente preocupación por la seguridad alimentaria a todos los niveles, varios productos agrícolas consumidos por la población humana han dado positivo a residuos de

glifosato (Giaccio et al., 2023; Ibrahim et al., 2023; Travaglia et al., 2015). Se han detectado residuos de este agroquímico en alimentos, sangre y orina humana (Castrejón-Godínez et al., 2021; Zhan, 2018). No obstante, otros estudios han sugerido que no genera efectos nocivos, cuando se utiliza en las condiciones recomendadas (Leyva-Morales et al., 2023).

- **Efectos secundarios derivados del glifosato en plantas no objetivo**

El glifosato es un potente agente quelante, que puede reducir los niveles de macronutrientes y micronutrientes esenciales necesarios para numerosos procesos biológicos en las plantas (Castrejón-Godínez et al., 2021; Matozzo et al., 2020; Torretta et al., 2018). Un estudio realizado en soja, una variedad que no es resistente al glifosato, reveló que la deriva del glifosato provocó una disminución de la actividad de nodulación y del crecimiento de los brotes de la planta, a pesar de la aplicación regular de nitrato, especialmente durante el crecimiento primario, lo que finalmente condujo a una disminución del rendimiento (Mohy-Ud-Din et al., 2023). Es evidente que el glifosato tiene la capacidad de alterar los niveles de macronutrientes y micronutrientes en las plantas.

Investigaciones de campo realizadas en Estados Unidos y Brasil han indicado que el uso continuado de glifosato puede provocar deficiencias de manganeso (Mn), hierro (Fe) y zinc (Zn) en múltiples variedades de cultivos. En los cultivos de soja cultivados en campos con deficiencia de hierro y tratados con aplicaciones frecuentes de glifosato, se produjo una exacerbación de las deficiencias de hierro (Fe) y cloro (Cl) (Mohy-Ud-Din et al., 2023), lo que provocó un suministro inadecuado de nutrientes a las plantas. Este impacto en los procesos biológicos de las plantas podría comprometer potencialmente su resistencia a los patógenos (Castrejón-Godínez et al., 2021; Matozzo et al., 2020; Ogunbiyi et al., 2023). De hecho, se ha observado que la exposición incluso a concentraciones muy bajas de glifosato reduce la resistencia de las plantas a la infección por patógenos (Spinelli et al., 2021).

Además, el glifosato que se filtra en el suelo también puede afectar al sistema radicular de las plantas no objetivo. La investigación sobre los efectos de la exposición al glifosato en la zona radicular es limitada y los estudios existentes se centran en especies de cultivo, como la remolacha (*Beta vulgaris*), la cebada (*Hordeum vulgare*), el algodón (*Gossypium hirsutum*), el maíz (*Zea mays*) y la canola (*Brassica napus*) (Saunders & Pezeshki, 2015). Otros estudios

han demostrado que el glifosato puede causar estrés oxidativo y peroxidación lipídica en las raíces del sauce. La peroxidación lipídica en las membranas biológicas es la manifestación más destacada del estrés oxidativo en las plantas y está estrechamente relacionada con la composición y la estabilidad de las membranas celulares (Mohy-Ud-Din et al., 2023).

## **2. Biorremediación**

### **2.1 Generalidades**

La biorremediación es un método efectivo que utiliza organismos vivos para eliminar contaminantes tóxicos y restaurar áreas contaminadas de manera segura y sostenible (Balseiro-Romero et al., 2019; Haque et al., 2022; Kisić et al., 2022; Korkmaz et al., 2021; Redfern et al., 2019; Zhan, 2018). Esta técnica se basa en el empleo de microorganismos como bacterias, hongos y algas, así como plantas, que tienen la capacidad de descomponer o eliminar sustancias nocivas, como pesticidas, fertilizantes y metales pesados presentes en los suelos, y aguas (Ambaye et al., 2022; Bala et al., 2022; Balseiro-Romero et al., 2019; Cara et al., 2022; Castro Rodríguez et al., 2022; Celin et al., 2020; Crecca et al., 2023; da Silva et al., 2020; Haque et al., 2022; Korkmaz et al., 2021; Malla et al., 2023; Mani & Kumar, 2014; Masotti et al., 2023; Mendoza-Burguete et al., 2023; Narayanan et al., 2023; Redfern et al., 2019; Rigoletto et al., 2020; Stepanova et al., 2022; Yaashikaa & Kumar, 2022; Zhan, 2018; H. Zhang et al., 2020). Los microorganismos asimilan los contaminantes y los descomponen en sustancias menos nocivas a través de sus procesos metabólicos, utilizando los contaminantes como fuente de energía o nutrientes (Jabbar et al., 2022), mientras que las plantas absorben los contaminantes a través de sus raíces y los convierten enzimáticamente en formas químicas más simples (Haque et al., 2022; Mani & Kumar, 2014; Yaashikaa & Kumar, 2022).

El objetivo de la biorremediación es disminuir o eliminar toda dispersión de contaminantes y acelerar el proceso de degradación natural utilizando las capacidades innatas de los microorganismos y las plantas para contrarrestar o erradicar los contaminantes del medio ambiente (Ambaye et al., 2022; Daccò et al., 2020; Jabbar et al., 2022; H. Zhang et



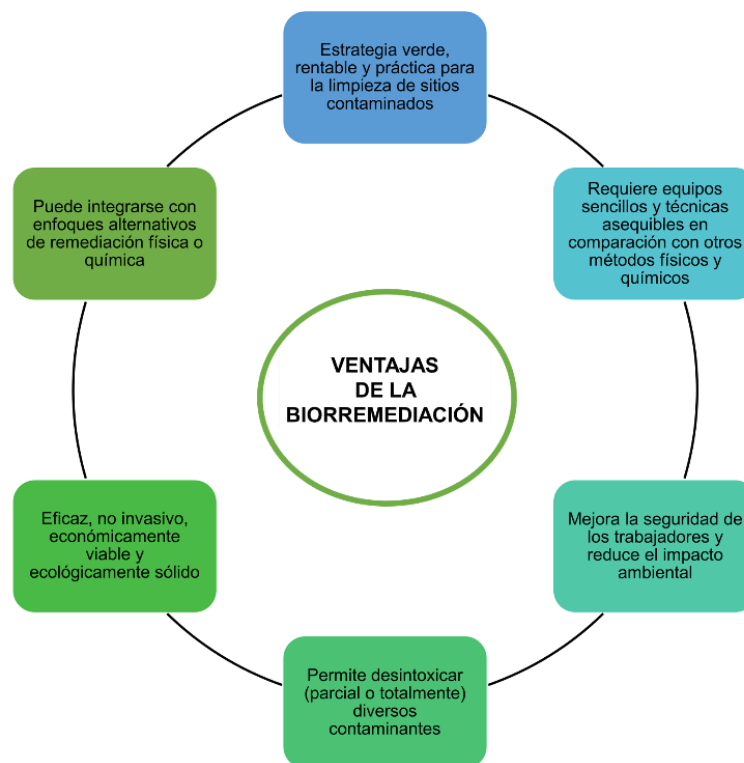
al., 2020). Para ello se utilizan técnicas como reacciones redox y adsorción de contaminantes (Haque et al., 2022).

Adicionalmente, en la biorremediación las enzimas microbianas transforman los contaminantes en compuestos inocuos, lo que se logra en condiciones aeróbicas o anaeróbicas (Jabbar et al., 2022). Es un proceso que implica la resistencia a las sustancias tóxicas mediante sistemas estructurales y enzimáticos. Las vías de degradación constan de múltiples pasos y vías en las que intervienen múltiples especies de microorganismos. Estos microorganismos forman consorcios de biopelículas mediante señalización química por detección de quórum (Pileggi et al., 2020).

Son varias las ventajas que presenta el proceso de biorremediación, tal como se muestra en la Figura 3.

**Figura 3.**

*Ventajas que presenta el proceso de biorremediación.*



*Nota.* Elaboración propia, tomando información de: (Bala et al., 2022; Castro Rodríguez et al., 2022; Daccò et al., 2020; Hamoudi-Belarbi et al., 2018; Hassan et al., 2022; Jabbar et al., 2022; Karimi et al., 2022; Kisić et al., 2022; X. Li et al., 2023; Mani & Kumar, 2014; Morillo et al., 2020; X. Wu et al., 2023).

## **2.2 Biorremediación de suelos**

La biorremediación de suelos se refiere al proceso de devolver los suelos contaminados a su estado original. Se emplean métodos para remediar el suelo, incluidos enfoques físicos, químicos y biológicos (Praveen & Nagalakshmi, 2022). Estos últimos son los procesos de biorremediación, que consiste en utilizar microorganismos en condiciones aerobias o anaerobias, convirtiendo el sustrato-carbono en CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y biomasa mediante oxidación, degradación y/o mineralización (Hernández-Adame et al., 2021).

La biorremediación ofrece las ventajas de preservar la textura y las características del suelo, al tiempo que mejora las propiedades físicas y químicas, como la aireación, el pH, la capacidad de retención de agua y la capacidad de intercambio iónico (Hamoudi-Belarbi et al., 2018). Una estrategia de biorremediación eficiente debe garantizar que ni el contaminante ni su intermedio permanezcan en el suelo después del tratamiento (Sagarkar et al., 2014).

En el proceso de biorremediación se cuenta con técnicas, operaciones, condiciones operacionales para lograr el éxito en la efectividad del bioproceso.

### **2.2.1 Técnicas**

Antes de decidir cuál es la técnica de biorremediación más adecuado, se realiza una inspección del lugar o región de contaminación para identificar las características de los contaminantes debido a que las propiedades del suelo varían de una región a otra (Yaashikaa & Kumar, 2022). Se distinguen dos tipos de técnicas de biorremediación *in situ* y *ex situ* (Gonçalves & Delabona, 2022). Los procesos *in situ* tratan el suelo y el agua subterránea en el lugar, sin necesidad de retirarlos ni transportarlos fuera del sitio, mientras que los procesos *ex situ*, por otro lado, implican la remoción de los medios contaminados a un área de tratamiento (da Silva et al., 2020).

**2.2.1.1 In situ.** En el campo de la biorremediación, in situ se refiere a un método en el que el proceso tiene lugar directamente en el sitio contaminado (Barba et al., 2021; Haque et al., 2022; Jabbar et al., 2022; Sharma et al., 2018), sin necesidad de retirar o excavar los materiales contaminados (Chaudhary & Kim, 2019; da Silva et al., 2020). Se aplica cuando el contaminante ya ha alcanzado el nivel freático. No es necesario excavar ni alterar el suelo circundante (Bala et al., 2022)

Existen dos tipos principales de técnicas de biorremediación in situ: intrínseca o diseñada (da Silva et al., 2020; Mani & Kumar, 2014; Yaashikaa & Kumar, 2022). La biorremediación intrínseca consiste en estimular la población microbiana autóctona proporcionándoles nutrientes y oxígeno adicionales para mejorar sus actividades metabólicas (Haque et al., 2022; Mani & Kumar, 2014). Esta técnica se basa en el proceso natural de atenuación biológica para degradar los contaminantes del medio ambiente (Mani & Kumar, 2014).

La adición de oxígeno se realiza mediante la inyección de aire en la región saturada, en ocasiones se combina el bombeo al vacío mejorado, la extracción del vapor del suelo y la ventilación (da Silva et al., 2020). La técnica suministra directamente oxígeno y potencia la degradación de los contaminantes en las aguas subterráneas y el suelo (Bala et al., 2022) y provoca que los compuestos orgánicos volátiles asciendan a la región no saturada, fomentando la capacidad de degradación de los microorganismos (Bala et al., 2022; da Silva et al., 2020; Jabbar et al., 2022). Este proceso aumenta la mezcla en la zona saturada, mejorando el contacto entre el suelo y las aguas subterráneas (Mani & Kumar, 2014) y es un proceso pasivo que no requiere la adición de agentes externos.

La biorremediación diseñada, por su parte, consiste en adicionar microorganismos específicos en el lugar contaminado para acelerar o mejorar el proceso de degradación (Haque et al., 2022; Mani & Kumar, 2014). Esto puede ser especialmente útil en los casos en que las condiciones del lugar no son propicias para proceso de degradación natural (Mani & Kumar, 2014). En ocasiones se emplean microorganismos modificados genéticamente, los cuales presentan tasas de supervivencia reducidas debido tanto a las condiciones ambientales como a los genes introducidos (Mani & Kumar, 2014).

La incorporación de nuevos microorganismos puede aumentar la resistencia y eficacia de los microorganismos autóctonos para descomponer determinados contaminantes (Haque

et al., 2022). La biorremediación in situ incluyen la atenuación natural, la bioventilación, bioaspersión y la fitorremediación. Estos métodos in situ ayudan a eliminar la probabilidad de dispersión de los contaminantes (Chaudhary & Kim, 2019; Fanaei et al., 2023; Jabbar et al., 2022).

La eficacia de las técnicas de biorremediación in situ se ve limitada por la dificultad de preservar la actividad de los microorganismos autóctonos y los bioinoculantes. Numerosos microorganismos tienden a entrar en un estado de inactividad, lo que reduce su metabolismo y su capacidad para descomponer los contaminantes (Zhou et al., 2023). Además, la lenta transferencia de masa de nutrientes y contaminantes en suelos contaminados por compuestos no polares agrava el procedimiento y prolonga la duración operativa (Barba et al., 2021; Sharma et al., 2018). Adicionalmente, una aireación deficiente, una nutrición inadecuada pueden restringir la eficacia de la biorremediación in situ (Chaudhary & Kim, 2019).

La biorremediación in situ representa un método rentable de bajo costo para descontaminar entornos contaminados sin necesidad de excavaciones ni transporte de contaminantes (Ajona & Vasanthi, 2021; Balseiro-Romero et al., 2019; Barba et al., 2021; Chaudhary & Kim, 2019; Fanaei et al., 2023; Jabbar et al., 2022; Mani & Kumar, 2014; Sharma et al., 2018). Esta técnica ofrece varias ventajas, como una alteración mínima del sitio, menos emisiones de polvo y la posibilidad de tratar tanto el suelo como las aguas subterráneas en el futuro (Mani & Kumar, 2014). Además, es un enfoque ecológico que transforma los compuestos nocivos en formas menos tóxicas, sin afectar a las comunidades ecológicas (Gonçalves & Delabona, 2022). En particular, se ha demostrado la eficacia de la biorremediación in situ para descontaminar hidrocarburos de petróleo en regiones frías (Chaudhary & Kim, 2019).

En un estudio sobre la eliminación de compuestos BTEX (xileno, etilbenceno, tolueno y benceno), se utilizó la bioaspersión para deshacerse de estos contaminantes, logrando una tasa de eliminación del 70% en 10 meses. Se ha descubierto que después de 4 meses, la eficacia de eliminación del xileno es del 81,7% y la del benceno del 86,4%. El estudio reveló que la biodegradación contribuyó al 36,98% de la eliminación, mientras que el 46,24% se debió a la bioaspersión mediante la volatilización (Jabbar et al., 2022).

En otro estudio, se utilizó la bioaspersión como tecnología de limpieza en una antigua base militar durante 10 años. Se observó que había un aumento de la temperatura en las aguas

subterráneas en las áreas de limpieza, posiblemente debido a la actividad biológica durante el proceso. Además, se encontró una relación directa entre las tasas de inyección de aire y la actividad de biodegradación, lo que sugiere que la tasa de inyección de aire es un factor importante para determinar la eficacia de la biodegradación en áreas altamente contaminadas (Mani & Kumar, 2014).

**2.2.1.2 Ex situ.** La biorremediación ex situ es una técnica utilizada para limpiar lugares contaminados trasladando los contaminantes a otro lugar y tratándolos sin alterar el sitio original (Ajona & Vasanthi, 2021; Chaudhary & Kim, 2019; da Silva et al., 2020; Haque et al., 2022; Praveen & Nagalakshmi, 2022; Sharma et al., 2018; Yaashikaa & Kumar, 2022). Se emplea cuando el contaminante no ha penetrado al nivel freático o no tiene ninguna incidencia en los suelos (Verma, 2021).

La eficacia de esta técnica depende de diferentes factores como los costos de degradación y transporte, las regulaciones ambientales, los efectos sociales, el tipo de contaminante y las características del lugar (Chaudhary & Kim, 2019; da Silva et al., 2020; Haque et al., 2022; Yaashikaa & Kumar, 2022). La biorremediación ex situ se puede clasificar en líquida y sólida, dependiendo del sustrato utilizado. En la fase líquida, se mezcla el suelo contaminado con agua y componentes esenciales en un biorreactor que proporciona condiciones favorables para que los microorganismos se desarrollen. Estos microorganismos entran en contacto con el suelo y degradan los contaminantes presentes. Una vez completado el proceso, el agua se separa y el suelo se reemplaza (Sharma et al., 2018; Yaashikaa & Kumar, 2022).

La biorremediación ex situ en fase sólida consiste en tratar el suelo contaminado por encima del nivel del suelo con sistemas de recogida para evitar la liberación de contaminantes al medio ambiente (Mani & Kumar, 2014; Sharma et al., 2018). El contenido de humedad, el suministro de oxígeno, la concentración de nutrientes y el calor se gestionan adecuadamente para facilitar el proceso de degradación (Sharma et al., 2018; Yaashikaa & Kumar, 2022). El tratamiento en fase sólida comprende residuos orgánicos como hojas, estiércol y residuos agrícolas, junto con residuos problemáticos como los domésticos e industriales, y lodos de depuradora o residuos sólidos urbanos (Mani & Kumar, 2014).

Los métodos *ex situ* son la opción preferida para realizar una remediación segura, rápida y eficaz, especialmente en suelos contaminados con sustancias nocivas y persistentes. Estos métodos ayudan a minimizar la contaminación en otros entornos ambientales y previenen ecotoxicidades. Son especialmente útiles en suelos con baja conductividad hidráulica, baja permeabilidad y alto contenido de materia orgánica, así como en regiones con condiciones ambientales adversas que no favorecen la biorremediación, como regiones frías (Balseiro-Romero et al., 2019). La biorremediación *ex situ* emplea diferentes sistemas, como el *land farming*, el compostaje, las biopilas, aireación acumulada y los biorreactores de lodos (Fanaei et al., 2023; Gonçalves & Delabona, 2022; Jabbar et al., 2022). Estos métodos son más efectivos que otras técnicas para eliminar una amplia variedad de contaminantes, en menos tiempo y con un mejor control operativo, lo que resulta en una mayor tasa de biodegradación (Fanaei et al., 2023). Es una técnica utilizada principalmente para tratar pesticidas y toxinas (Sharma et al., 2018).

Los métodos de biorremediación *ex situ* ofrecen varias ventajas sobre las técnicas *in situ* en términos de control medioambiental, lo que se traduce en tasas de biodegradación más rápidas. Esta técnica es cada vez más empleada debido a su rentabilidad y a la capacidad de homogeneizar el suelo contaminado, lo que hace que el proceso sea más uniforme y requiera menos tiempo (da Silva et al., 2020). El método *ex situ* también permite controlar los nutrientes y el pH y emplear microorganismos exógenos (Bala et al., 2022; Balseiro-Romero et al., 2019), incrementando la transferencia de masa intensificada, la mejora de la cinética de biodegradación (Fanaei et al., 2023). Diversos estudios han demostrado el éxito de la aplicación de métodos *ex situ* para tratar suelos contaminados con petróleo a bajas temperaturas (Chaudhary & Kim, 2019).

La biorremediación *ex situ* conlleva costos significativos debido a la excavación y el transporte del suelo, lo que aumenta el riesgo de distribución de contaminantes por el transporte y la alteración del suelo en lugares contaminados (Balseiro-Romero et al., 2019; Chaudhary & Kim, 2019; da Silva et al., 2020; Fanaei et al., 2023; Gonçalves & Delabona, 2022). Además, la construcción y el funcionamiento de un biorreactor presentan otros inconvenientes y gastos en comparación con las técnicas de biorremediación *in situ*. Sin embargo, la biorremediación de lodos puede resultar a menudo más rentable y ecológica que

la incineración de suelos, el lavado de suelos o la desorción térmica (Balseiro-Romero et al., 2019).

### ***2.2.2 Operaciones de biorremediación***

Para estimular y mejorar la actividad microbiana y consecuentemente el proceso de biorremediación, se pueden agregar microorganismos (bioaumentación/bioargumentación), nutrientes (bioestimulación/bioaumentación) y aire al sistema (bioventilación), sustratos orgánicos como adjuntos u otros donantes/aceptores de electrones (EPA, 2023; Malla et al., 2023; Redfern et al., 2019).

**2.2.2.1 Bioaumentación.** La bioaumentación es un método utilizado en biorremediación para acelerar la descomposición o degradación de compuestos en áreas contaminados (Ajona & Vasanthi, 2021; Gonçalves & Delabona, 2022; Jabbar et al., 2022; Raimondo et al., 2020). Es utilizada cuando el contenido de microorganismos en el material a degradar es bajo (menor de 10<sup>5</sup> microorganismos/g de material en base seca) o cuando los microorganismos presentes no poseen capacidad de degradación (EPA, 2023).

La bioaumentación consiste en la adición de una cepa microbiana con alta actividad catalítica para mejorar la degradación de contaminantes (Ajona & Vasanthi, 2021; Chaudhary et al., 2023; Chávez-Ortiz et al., 2022; da Silva et al., 2020; Goma-Tchimbakala et al., 2022; Jabbar et al., 2022; Morillo et al., 2020; Poi et al., 2017; Raimondo et al., 2020; Rigoletto et al., 2020; Schommer et al., 2023). Las cepas son un consorcio microbiano, microorganismos genéticamente modificados o vectores que contienen genes de degradación a la microflora existente (Ajona & Vasanthi, 2021; Chaudhary & Kim, 2019; Hassan et al., 2023; Jabbar et al., 2022; Morillo et al., 2020; Poi et al., 2017; Raffa & Chiampo, 2021). La adición de biomasa microbiana a áreas contaminadas puede mejorar considerablemente su rendimiento de biodegradación (Muter, 2023).

Los microorganismos inoculados pueden ser endógenos o exógenos (Ajona & Vasanthi, 2021; Mani & Kumar, 2014; Morillo et al., 2020). Los microorganismos endógenos son los que existen de forma natural en el suelo contaminado y se han adaptado

para utilizar el contaminante como fuente de energía y carbono. Como resultado, es posible que ya posean la capacidad de descomponer este contaminante específico, aunque sea en bajas concentraciones o que no estén lo suficientemente activados como para degradarlo de forma significativa (Morillo et al., 2020). Si este es el caso, estos microorganismos pueden extraerse y mejorar su crecimiento en un laboratorio (Hassan et al., 2023; Morillo et al., 2020). Posteriormente, se reintroducen en el suelo contaminado a concentraciones más elevadas (Hassan et al., 2023; Schommer et al., 2023). La reinoculación de estos microorganismos específicos puede mejorar significativamente la descomposición de determinados contaminantes (Hassan et al., 2023; Morillo et al., 2020).

En situaciones en las que el suelo contaminado carece de microorganismos capaces de degradar un contaminante concreto, es necesario inocular con microorganismos exógenos que sean capaces de degradarlo (Hassan et al., 2022; Morillo et al., 2020). Los microorganismos exógenos pueden obtenerse de otros lugares o ecosistemas contaminados e introducirse en las zonas contaminadas (Morillo et al., 2020; Schommer et al., 2023). La eficacia de estas intervenciones depende de la capacidad de estos microorganismos para competir con los microorganismos depredadores y autóctonos, así como de diversos factores abióticos (Hassan et al., 2023).

Además, es posible utilizar microorganismos modificados genéticamente que posean genes que codifiquen enzimas que degraden contaminantes específicos (Hassan et al., 2022; Schommer et al., 2023). No obstante, la inestabilidad de su material genético supone un reto durante su aplicación (Chaudhary & Kim, 2019).

El empleo de consorcios microbianos o cultivos mixtos para la bioaumentación, en lugar de cepas individuales, se considera un enfoque más favorable. La utilización de consorcios, ofrece ventajas significativas al ampliar las capacidades enzimáticas y catabólicas, lo que conduce a una descomposición más completa de los contaminantes (Goma-Tchimbakala et al., 2022). Estos microorganismos pueden adaptarse a diversas condiciones ambientales, como temperaturas y niveles de pH fluctuantes, para garantizar su eficacia en distintos entornos contaminados. Además, pueden utilizar nutrientes accesibles como carbono, nitrógeno, fósforo y oxígeno, lo que favorece el proceso (Jabbar et al., 2022).

Estudios han demostrado sistemáticamente que los consorcios de microorganismos degradadores superan a las cepas individuales en la eliminación de contaminantes. Además,



varias investigaciones sugieren que las cepas obtenidas de lugares contaminados son las más eficaces para la biorremediación (Hassan et al., 2023). Estudios realizados por Rendón et al., emplearon lodos de depuración de plantas de tratamientos de aguas residuales como microorganismos para la bioaumentación (Rendón-Castrillón et al., 2023a) y el empleo de cepas mixtas de hongos obtenidas de suelos contaminados por petróleo (Jabbar et al., 2022).

La eficacia de la bioaumentación depende de varios factores, como el tipo de suelo, la humedad, la aireación, la temperatura, el pH y el contenido de materia orgánica. Estos factores abióticos deben tenerse en cuenta a la hora de aplicar estrategias de bioaumentación (Hassan et al., 2020). Los niveles extremos de pH y las altas temperaturas pueden afectar negativamente a las bacterias y los hongos. Además, la cantidad de materia orgánica en el suelo es crucial, ya que afecta a la presencia de contaminantes y a la capacidad de los microorganismos para descomponerlos (Hassan et al., 2023). Un estudio demostró que la presencia de carbono aromático en los ácidos húmicos, junto con la materia orgánica total, es esencial para la actividad y supervivencia del microorganismo *A. xylooxidans* en la degradación de bifenilos policlorados en diferentes suelos. El estudio también reveló que los niveles intermedios de carbono orgánico y carbono aromático dieron mejores resultados. Sin embargo, ciertas características de los contaminantes podrían limitar la actividad microbiana y dificultar la transferencia de masa durante el proceso de bioaumentación (Hassan et al., 2023).

El éxito de la bioaumentación también depende de factores bióticos, como la competencia entre microorganismos nativos y foráneos por fuentes bajas en carbono, relaciones antagónicas y depredación por protozoos y bacteriófagos. Es importante señalar que no todos los individuos de un mismo género están igualmente adaptados a diferentes tareas, lo que significa que algunos pueden ser competitivos en una gama más amplia de entornos, mientras que otros sólo pueden ser aptos para entornos extremadamente especializados (Hassan et al., 2023).

Las actinobacterias, son empleadas para bioaumentación, ya que poseen la capacidad de descomponer contaminantes y adaptarse a distintos tipos de suelo (Raimondo et al., 2020). Las investigaciones sobre bioaumentación se han centrado principalmente en especies microbianas como *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Lysinibacillus* sp., *Alcaligenes*, *Rhodococcus*, *Achromobacter*, *Bacillus* y *Mycobacterium*. Igualmente, las

asociaciones de microorganismos, incluidos hongos y bacterias, hongos pertenecientes a los géneros *Achremonium*, *Absidia*, *Aspergillus* y *Penicillium*, y bacterias como *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flayobacterium*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* y *Sphingobium* (Jabbar et al., 2022).

La bioaumentación es especialmente eficaz para contaminantes orgánicos (Wu et al., 2022), suelos contaminados con cloro (Praveen & Nagalakshmi, 2022) y se ha utilizado con éxito en varios casos, como benceno, tolueno, etilbenceno y xileno (BTEX) y los fluidos residuales de la metalurgia (Hassan et al., 2022). Se utiliza en casos donde los métodos no biológicos son más costosos y para compuestos que requieren múltiples procesos de remediación (Hassan et al., 2023).

En la Tabla 2 se muestran varios estudios de biorremediación empleando la bioaumentación.

**Tabla 2.**

*Estudios de biorremediación empleando bioaumentación*

Contaminante en el suelo	Microorganismos	Eficiencia	Referencia
Cr (VI) y atrazina	Consorcio microbiano artificial: <i>Paenarthrobacter ureafaciens</i> , <i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> , <i>Pseudomonas putida</i> .	400 mg/kg de atrazina fue del 100%, mientras que la de 40 mg/kg de Cr (VI) fue del 57,7%	(X. Li et al., 2023)
Atrazina	<i>Paenarthrobacter</i> spp.	95,9 % de 5 mg/kg	(X. Li et al., 2023)
Bifenilos policlorados	<i>Pseudomonas</i> spp. y <i>Alcaligenes faecalis</i> y <i>Z. mays L</i>	Reducción del 45,2 al 66,4%	(Hassan et al., 2023)
Bifenilos policlorados	<i>Microbacterium</i> B51 y <i>R. ruber</i> P25	96,4% en suelo industrial y un 72,2% en suelo natural, a partir de la concentración inicial de 100 mg/kg, en 90 días	(Hassan et al., 2023)
Bifenilos policlorados	<i>Pseudomonas</i> , <i>Achromobacter</i> y <i>Bacillus</i>	60% después de ocho semanas	(Hassan et al., 2023)
Bifenilos policlorados	<i>R. erythropolis</i> IN129, <i>R. especie</i> IN306 y <i>Mycolicibacterium frederiksbergense</i> IN53	84,5% después de 6 meses	(Hassan et al., 2023)
Bifenilos policlorados	<i>Arabidopsis thaliana</i> y <i>P. putida</i>	90% en 28 días	(Hassan et al., 2023)
As, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn	Consorcio de hongos filamentosos	Mn y Ni (67% cada uno) > Zn (66%) > As (65%) > Pb (63%) > Cu (53%) > Fe	(Hassan et al., 2022)

Contaminante en el suelo	Microorganismos	Eficiencia	Referencia
		(47%) > Cr (36%)	
		La inoculación con el consorcio fúngico (57 ± 1,97%) a los 45 días. La inoculación con <i>Aspergillus niger</i> (49 ± 1,2%), <i>Aspergillus terreus</i> (44 ± 0,67 % ) . %), <i>Aspergillus fumigatus</i> (35 ± 0,98%) y <i>Aspergillus flavus</i> (32 ± 0,38%).	(Hernández-Adame et al., 2021)
Hidrocarburos totales de petróleo	<i>Aspergillus niger</i> MT786339.1, <i>Aspergillus fumigatus</i> MT786338.1, <i>Aspergillus terreus</i> MT786341.1 y <i>Aspergillus flavus</i> MT786340.1		
Atrazina	<i>Streptomyces</i> sp. atz2	Redujo la vida media de 115,5 días a 4,1 días	(Gonçalves & Delabona, 2022)
Hidrocarburos de petróleo (70,880 ± 975 mg )	Cuatro cepas de hongos ( <i>Aspergillus niger</i> MT786339.1, <i>Aspergillus fumigatus</i> MT786338.1, <i>Aspergillus terreus</i> MT786341.1 y <i>Aspergillus flavus</i> MT786340.1)	57 ± 1,97%	(Hernández-Adame et al., 2021)

**2.2.2.2 Bioestimulación.**

La bioestimulación es el proceso de estimular biológicamente la actividad microbiana nativa mediante la adición de nutrientes al suelo como nitrógeno, carbono y fósforo (Ajona

& Vasanthi, 2021; da Silva et al., 2020; Hernández-Adame et al., 2021; Jabbar et al., 2022; Martínez Álvarez et al., 2022; Raffa & Chiampo, 2021), lo que aumenta el desarrollo de diversidad de especies microbianas presentes en el suelo (Raffa & Chiampo, 2021), que se encontraban inhibidos por los mismos contaminantes. Los agentes estimulantes suelen aplicarse bajo tierra a través de pozos de inyección (da Silva et al., 2020).

En la bioestimulación se logra una adición de donantes de electrones, aceptores de electrones, nutrientes y agua (Castro Rodríguez et al., 2022; D. K. Chaudhary & Kim, 2019; Gonçalves & Delabona, 2022; Hassan et al., 2023; Jabbar et al., 2022; Mani & Kumar, 2014; Raffa & Chiampo, 2021; Raimondo et al., 2020), esenciales para la supervivencia de los microorganismos, proporcionando energía, enzimas y poblaciones microbianas para degradar los contaminantes (Raffa & Chiampo, 2021).

Se emplean como bioestimulante diversos residuos orgánicos procedentes de actividades agrícolas y agroindustriales, como astillas de madera, paja, torta de filtración de caña de azúcar y cáscara de naranja, se utilizan habitualmente como agentes bioestimulantes debido a su alto contenido nutricional y a su capacidad para mejorar las propiedades del suelo (Raimondo et al., 2020). Además, el estiércol, la urea, el compost y los fertilizantes inorgánicos también pueden utilizarse como nutrientes en la bioestimulación (Jabbar et al., 2022).

La bioestimulación es una solución muy eficaz por su facilidad y manejabilidad, ya que utiliza microorganismos autóctonos bien adaptados y distribuidos en el medio (Castro Rodríguez et al., 2022; da Silva et al., 2020; Jabbar et al., 2022). Permite optimizar las condiciones del lugar, como la aireación, el pH y la temperatura, o adicionar nutrientes orgánicos o inorgánicos para mejorar la degradación de los contaminantes (Rigoletto et al., 2020). Es un proceso asequible que aumenta la biodisponibilidad de la comunidad microbiana al mejorar el contenido de nutrientes del suelo (Jabbar et al., 2022).

La bioestimulación puede mejorar la biorremediación de lugares contaminados, como los contaminados con compuestos diésel. La adición de macronutrientes puede aumentar la biodegradación del biodiésel en comparación con la atenuación natural. Otro ejemplo de bioestimulación es el empleo de aireación forzada y la adición de diferentes sustratos y biomasa.

**Tabla 3.**

*Estudios de biorremediación empleando bioestimulación*

Contaminante en el suelo	Compuestos empleados en la bioestimulación	Eficiencia	Referencia
Petróleo crudo (10% y 15%)	Biocarbón	34%	(Jabbar et al., 2022)
Desechos de metales pesados (Fe, Cu y Cd)	Nutrientes, aceptores de electrones como fósforo, nitrógeno, oxígeno, glucosa (como fuente de carbono) y solución salina.	98,5, 99,6 y 100 %	(Mani & Kumar, 2014)
1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil) etano (DDT) y sus metabolitos 1,1-dicloro-2,2-bis(4-clorofenil) etano (DDD) y 1 Se monitoreó el 1-dicloro-2,2-bis(4-clorofenil) etileno (DDE).	Nitrógeno, fósforo y Tween 80.	DDT en un 94,3%	(Raffa & Chiampo, 2021)
Ácido 2,4-diclorofenoxiacético	Materia orgánica disuelta	23,5 ± 10,2 % a 82,3 ± 11,6 %	(Raffa & Chiampo, 2021)

Además, en la biorremediación se puede combinar la bioaumentación con la bioestimulación que aumenta la capacidad del microbiota existente y mejorando la eficiencia global del bioproceso (Gonçalves & Delabona, 2022).

**2.2.2.3 Bioventilación.** La bioventilación es un proceso de estimulación de la biorremediación de contaminantes en el suelo proporcionando aire u oxígeno a los microorganismos existentes en el mismo, bien sea como inyección de un flujo de aire controlado o como volteo para mejorar la actividad de los microorganismos (Bala et al., 2022; D. K. Chaudhary & Kim, 2019; da Silva et al., 2020; Mani & Kumar, 2014; Mendoza-Burguete et al., 2023; Triozzi et al., 2023; Yaashikaa & Kumar, 2022).

La bioventilación convencional proporciona una inyección de aire a bajos flujos con un soplador para promover la degradación microbiana de compuestos orgánicos, minimizando la volatilización y liberación de contaminantes a la atmósfera (Castrejón-

Godínez et al., 2021; Chaudhary & Kim, 2019; Mani & Kumar, 2014; Mendoza-Burguete et al., 2023; Triozzi et al., 2023), en ocasiones se combina la bioventilación con la bioestimulación adicionando nutrientes como fósforo o nitrógeno para favorecer el crecimiento microbiano (Jabbar et al., 2022; Praveen & Nagalakshmi, 2022).

La bioventilación puede realizarse en modo activo o pasivo con respecto a la aireación. En el método activo, el aire se introduce en el suelo mediante un soplador (Raffa & Chiampo, 2021). En cambio, el método pasivo se basa en el intercambio de gases a través de pozos de ventilación debido a la presión atmosférica. La duración de la biorremediación por bioventilación depende de factores como el tipo y la concentración del contaminante, los índices de biodegradación y las características del suelo, como la permeabilidad y el contenido de agua (Raffa & Chiampo, 2021).

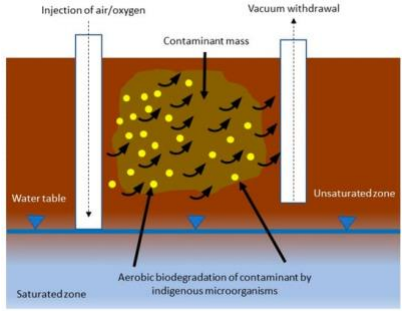
Adicionalmente, la bioventilación se realiza mediante una inyección de aire humidificado, de manera que se mantenga la humedad en el suelo tratado, pues esta y el agua retenida en el suelo marcan un límite para el bioproceso. Una humedad excesiva reduce la permeabilidad al aire del suelo y evita la transmisión de gases, mientras que una humedad demasiado baja inhibe el metabolismo de la biomasa y la actividad microbiana (Triozzi et al., 2023).

La bioventilación ha demostrado su eficacia en la biorremediación de suelos contaminados por productos derivados del petróleo (da Silva et al., 2020), la degradación de compuestos orgánicos en campos agrícolas (Castrejón-Godínez et al., 2021; da Silva et al., 2020), el tratamiento de residuos peligrosos en suelos de zonas vadosas (Karimi et al., 2022), así como de hidrocarburos simples (Jabbar et al., 2022) y compuestos BTEX (Benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos). Además, la bioventilación puede combinarse con la extracción de vapores del suelo, que utiliza un elevado flujo de aire (Chaudhary & Kim, 2019).

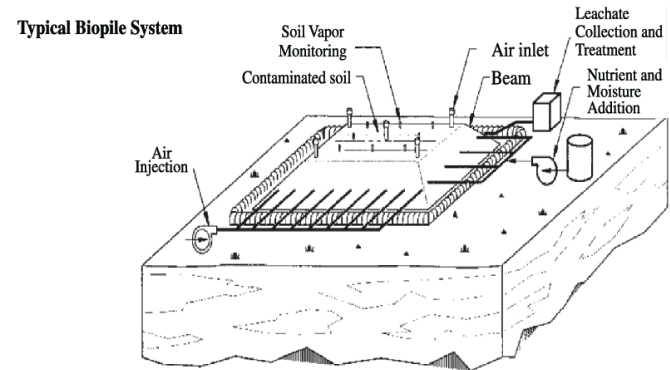
Los sistemas de bioventilación se realizan de acuerdo a si la técnica es in-situ o ex-situ y de acuerdo al biorreactor empleado para esta última, tal como se muestra en la Tabla 4

**Tabla 4.**

*Forma de suministrar aire al proceso de biorremediación*

Biorreactor	Técnica	
	In situ	Ex situ
	<p>El aire se inyecta al sistema directamente. No es necesario que este humidificado, debido a que el contaminante ya alcanzó el nivel freático y el suelo se encuentra muy húmedo (Silva et al., 2020; Raju &amp; Scalvenzi, 2017; Triozzi et al., 2023).</p>	
<b>Bioventilación</b>	 <p>The diagram illustrates a bioventilation system. It shows a cross-section of the ground with a brown unsaturated zone above a blue saturated zone. A horizontal line indicates the water table. In the unsaturated zone, there is a yellowish-brown mass of contaminants. A vertical pipe on the left is labeled 'Injection of air/oxygen' and has arrows pointing down into the contaminant mass. A vertical pipe on the right is labeled 'Vacuum withdrawal' and has an arrow pointing up from the contaminant mass. Below the saturated zone, there are blue arrows pointing up, labeled 'Aerobic biodegradation of contaminant by indigenous microorganisms'.</p>	
	<p>Sistema de bioventilación (da Silva et al., 2020)</p>	
<b>Biopila</b>		<p>El aire humidificado pasa a través de los difusores que se encuentran en la base de la biopila previo a construcción del cimiento de las mismas con gravilla (Pavel &amp; Gavrilesco, 2008).</p>

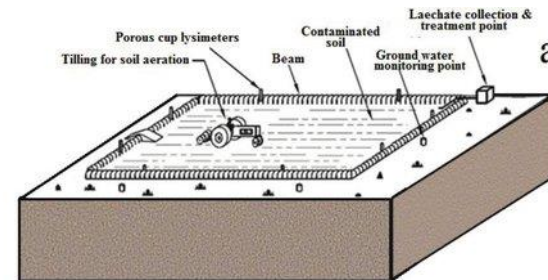




Sistema de biopila (Pavel & Gavrilescu, 2008)

La forma de airear es sistema es mediante volteo con retroescabadora (Liu et al., 2021a; Raju & Scalvenzi, 2017).

**Landfarming**



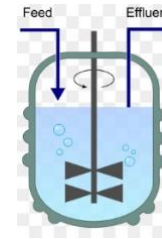
Sistema landfarming (Pavel & Gavrilescu, 2008)

**Aireación  
acumulada**

La forma de airear es sistema es mediante volteo con retroescabadora o con palas. Dependerá del tamaño del biorreactor (Drewnowski et al., 2019).

**Biorreactor**

El suministro de aire se realiza mediante un soplador a través de un difusor (Drewnowski et al., 2019).



Sistema de un biorreactor (LibreTexts, 2012)

---

Existen procesos de biorremediación donde se emplean las tres técnicas simultáneamente: bioaumentación/bioestimulación y bioventilación, pues la adición de nitrógeno y fósforo, junto con la inoculación y aireación microbiana, puede crear una condición óptima para que los microorganismos degraden el contaminante (Yaman, 2020). Por ejemplo, en la biorremediación de suelos contaminados con petróleo crudo se enmendaron con aguas residuales en proporciones variables y se inyectó aire atmosférico. En este caso el agua residual cumplió una doble función: carga microbiana y nutrientes. Se determinó que el empleo combinado de aguas residuales y bioventilación mejoraba la eficacia de eliminación de los hidrocarburos totales del petróleo en un 60-75%, en comparación, las aplicaciones individuales de aguas residuales y bioventilación registraron eficacias de eliminación del 48-59% y el 55%, respectivamente (Jabbar et al., 2022).

### ***2.2.3 Condiciones operacionales***

Para una degradación eficaz de los contaminantes, los microorganismos que intervienen en el proceso de biorremediación necesitan entrar en contacto con compuestos que les proporcionen la energía y los nutrientes necesarios para multiplicarse. En el proceso de biorremediación influyen diversos factores, como los físicos, químicos y biológicos, el tipo de suelo, las fuentes de carbono y nitrógeno y el tipo de microorganismos, ya sean individuales o consorcios (Bala et al., 2022). Estos realizan un trabajo eficaz en cuanto se ajusten las condiciones operacionales para la realización de la biorremediación (Narayanan et al., 2023) como: nutrientes, pH, temperatura, humedad, permeabilidad intrínseca, concentración de contaminantes, inóculo y adjuntos.

**2.2.3.1 Nutrientes.** Los nutrientes se clasifican en macroelementos, microelementos y oligoelementos en función de la calidad y los requisitos de los microorganismos para la biorremediación (Salari et al., 2022). Las células microbianas necesitan tres macronutrientes principales: carbono, fósforo y nitrógeno, que representan el 14% de su peso seco y son esenciales para el crecimiento y la actividad metabólica (Hussein et al., 2024; Salari et al., 2022). Es necesario un suministro adecuado de nutrientes para favorecer la proliferación y el funcionamiento de los microorganismos. En algunos casos, la eficacia de los sistemas de biorremediación puede mejorarse complementándolos con nutrientes específicos o enmiendas orgánicas (Hussein et al., 2024). Se recomienda un contenido orgánico mínimo del 40% y una relación C:N inferior a 50 para una biodegradación rápida (Radhakrishnan et al., 2023). La proporción C:N:P sugerida para la biorremediación varía entre 100:10:1 y 100:5:1, que corresponde a los nutrientes requeridos por los microorganismos (Kisić et al., 2022; Yaman, 2020).

**2.2.3.2 pH.** Los cambios en el pH del suelo pueden afectar significativamente en el proceso de biorremediación al influir en la eficacia de los microorganismos. Los microorganismos tienen un rango óptimo de pH, y cualquier desviación de este rango puede reducir su eficacia (Triozi et al., 2023). Por lo tanto, se recomienda un intervalo de pH entre 6 y 8 (Salari et al., 2022), siendo lo más deseable un pH próximo al neutro (Jabbar et al., 2022; Radhakrishnan et al., 2023). La degradabilidad de los compuestos depende de las enzimas, que a su vez están influidas por el pH. Por ejemplo, un hongo puede degradar hidrocarburos más eficientemente a pH 7 que las bacterias, que solo pueden hacerlo a pH 5 (Salari et al., 2022).

**2.2.3.3 Temperatura.** La temperatura es un factor relevante para la eficacia de la biorremediación (Hussein et al., 2024), debido a que los microorganismos generan calor metabólico durante el bioproceso. Los medios sólidos suelen tener conductividades térmicas bajas, lo que puede hacer que el calor se acumule en el medio, provocando aumentos de temperatura y gradientes térmicos perjudiciales (Banat et al., 2021). Cada especie tiene unos requisitos de temperatura específicos para su crecimiento y una actividad metabólica (Hussein et al., 2024). Un aumento de la temperatura se traduce en una mayor tasa de biodegradación, mientras que una disminución de la temperatura conduce a una menor tasa de biodegradación (Salari et al., 2022).

Los microorganismos son más eficientes dentro de un determinado rango de temperaturas. Por ejemplo, los hongos y las levaduras filamentosas requieren temperaturas entre 25 y 30°C para una producción óptima (Banat et al., 2021). Por ejemplo, un aumento de 5 °C en la temperatura puede acelerar la tasa de biodegradación de los hidrocarburos del petróleo. Aumentar la temperatura hasta el rango mesofílico y termofílico (20 - 60°C) puede mejorar significativamente la biorremediación de los hidrocarburos del petróleo (Wang et al., 2022).

Por otro lado, un aumento excesivo de la temperatura puede causar daños irreversibles a los microorganismos debido al exceso de calor. Las fluctuaciones de temperatura pueden influir en las reacciones de adsorción y desorción de pesticidas y metales pesados en el suelo y los microorganismos, así como alterar las características fisicoquímicas de los contaminantes. Por ejemplo, un aumento de la temperatura puede incrementar la solubilidad de los contaminantes hidrófobos, aumentando así su biodisponibilidad. Por el contrario, las bajas temperaturas pueden dificultar el paso de los contaminantes de la fase sólida a la líquida (Triozi et al., 2023).

**2.2.3.4 Humedad.** La humedad es un factor relevante en el proceso de biorremediación, debido a que, en los sistemas de biotratamiento en sólidos, el contenido de agua del medio es un factor fundamental que afecta a la tasa de crecimiento y propagación microbiana en los suelos, lo que en última instancia determina el rendimiento del proceso (Banat et al., 2021). Una humedad excesiva puede reducir la permeabilidad al aire del suelo y dificultar la transmisión de gases, mientras que una humedad baja puede inhibir el metabolismo de la biomasa y la actividad microbiana (Triozi et al., 2023). Se recomienda mantener un rango de humedad del 30-50% (Radhakrishnan et al., 2023), valor que dependerá del mismo suelo. Por otro lado, altos contenidos de humedad pueden provocar una disminución de la porosidad del sustrato, lo que se traduce en una menor superficie para el anclaje de las células microbianas. Por el contrario, con los niveles más bajos de contenido de humedad se dan valores más bajos de las actividades enzimáticas y del contenido total de proteínas, lo que lleva a una disminución en la biorremediación (El Salamony et al., 2024).

Los hongos filamentosos productores de biosurfactantes, como *A. fumigatus* y *T. versicolor*, y las levaduras, como *S. bombicola*, requieren una humedad óptima comprendida entre el 44,7% y el 50%. Las bacterias suelen requerir niveles de humedad más elevados que los hongos y las levaduras, con unos requisitos de actividad del agua que oscilan entre 0,8 y 0,9. Esto puede provocar la compactación del medio sólido (Banat et al., 2021).

**2.2.3.5 Concentración de contaminantes.** La presencia de contaminantes en el suelo puede afectar la capacidad de biodegradación. Tanto concentraciones mínimas como excesivas pueden tener un impacto negativo en los microorganismos encargados de la biodegradación. La velocidad de biodegradación está vinculada a la complejidad química y al peso molecular de las moléculas contaminantes, siendo más rápida cuanto más simples y ligeras sean. Los estudios de caracterización ambiental proporcionan información sobre los contaminantes presentes en un área y pueden ayudar a determinar la mejor estrategia de biorremediación (Triozi et al., 2023).

Cuando las concentraciones de contaminantes son muy altas se recomienda adoptar una estrategia de alimentación en los biorreactores tipo fed batch (FB) (Amândio et al., 2024).

Fed batch es una combinación de modo discontinuo y continuo con la posterior inclusión de sustrato, en este caso el sustrato es el mismo contaminante, y/o microorganismos en el

medio de fermentación (Afedzi & Parakulsuksatid, 2023). Las estrategias de alimentación se pueden clasificar en tres categorías (Afedzi & Parakulsuksatid, 2023):

- Estrategias de alimentación única y combinada: la alimentación única implica únicamente fuente de nitrógeno en el proceso de alimentación del bioproceso. La alimentación combinada se produce cuando se alimentan enzimas y/o microbios fermentativos junto con el sustrato.
- Estrategias de alimentación a intervalos variables y constantes: cuando los sólidos se alimentan en diferentes intervalos de tiempo a lo largo del bioproceso, se denomina alimentación a intervalos variables o por impulsos. La alimentación a intervalos constantes es el resultado de alimentar fuente de nitrógeno al mismo tiempo.
- Estrategias de alimentación iguales y desiguales: la misma cantidad de alimentación es la estrategia mediante la cual se alimenta la misma cantidad de fuente de nitrógeno durante todo el proceso de fermentación, mientras que la cantidad de alimentación desigual es cuando la cantidad de fuente de nitrógeno a alimentar varía con el momento de la alimentación.

Las tres categorías de estrategias de alimentación se pueden aplicar simultáneamente.

**2.2.3.6 Inóculo.** La eficacia del proceso de biorremediación viene determinada por la población microbiana adecuada (Radhakrishnan et al., 2023). Una mayor concentración de células viables inoculadas se traduce en una mayor tasa de biorremediación y productividad. Por lo tanto, se recomienda utilizar la mayor concentración de inoculación posible. Sin embargo, en la práctica, no es factible utilizar valores excesivamente altos debido al aumento asociado de la viscosidad del medio y a los factores limitantes de la difusión. Estos efectos pueden reducir la productividad, como predice la teoría (Caro et al., 2024). Normalmente el volumen de inóculo para los procesos de biorremediación es del 20% (Ramírez et al., 2018; Rendón-Castrillón et al., 2023b, 2024).

**2.2.3.7 Adjuntos.** Los adjuntos, se emplean para mejorar la porosidad de los suelos, a la vez, según se seleccione, servirán para aumentar la flora microbiana o aporte de nitrógeno e incluso materia orgánica (Ramadass et al., 2015). Por ejemplo, el salvado de trigo se considera uno de los mejores residuos agrícolas para la biodegradación de las plumas y aumentar la producción de enzimas. Además, la cama de salvado de trigo permite una circulación de aire y una transferencia de oxígeno óptima, lo que se traduce en una mejor transferencia de calor y masa (El Salamony et al., 2024).

### **2.3 Microorganismos que intervienen en la biorremediación**

La biorremediación microbiana es un proceso biotecnológico que utiliza microorganismos adaptados para degradar contaminantes en lugares contaminados. Al llegar al lugar contaminado, la microbiota reacciona inmediatamente a las nuevas condiciones. Proliferarán las especies capaces de degradar el contaminante y se activarán las que puedan producir las enzimas necesarias para la degradación del contaminante (Morillo et al., 2020). Los microorganismos son capaces de degradar, asimilar y metabolizar bioquímicamente compuestos orgánicos complejos, xenobióticos y sustancias recalcitrantes para satisfacer sus necesidades energéticas (Temporiti et al., 2022), convirtiéndolos en moléculas más sencillas para utilizarlas como fuentes de carbono y energía (Morillo et al., 2020; H. Zhang et al., 2020).

Los microorganismos son una opción para la remediación debido a su adaptabilidad y a sus sistemas biológicos. Pueden crecer en presencia de compuestos y residuos peligrosos, incluso a temperaturas extremas (Bala et al., 2022). Los consorcios de varias cepas son más eficaces que los cultivos de una sola cepa para degradar contaminantes (Celin et al., 2020; P. Chaudhary et al., 2023; Mendoza-Burguete et al., 2023). Los consorcios microbianos pueden explotar eficazmente los recursos y metabolitos debido a su autoorganización y adaptabilidad. Son viables en diversas condiciones ambientales, como el pH, la temperatura, el contenido de agua y los compuestos orgánicos (Chaudhary et al., 2023). Aunque, algunos microorganismos sólo se han ensayado para degradar contaminantes en condiciones de laboratorio (Sharma et al., 2018).



Las bacterias son microorganismos muy diversos debido a sus variados requisitos nutricionales. Se utilizan en procesos de biorremediación, incluida la degradación de pesticidas, hidrocarburos poliaromáticos y metales pesados (Elarabi et al., 2020). Los estudios han demostrado que las bacterias modificadas genéticamente pueden ser eficaces en la biorremediación de sistemas contaminados con metales pesados (Mendoza-Burguete et al., 2023) y pesticidas. Las bacterias naturales que pueden tratar simultáneamente metales pesados y plaguicidas han recibido menos atención en la investigación que las bacterias degradadoras de plaguicidas a las que se ha dotado artificialmente de capacidad de eliminación metales pesados con pesticidas (Zhang et al., 2020).

Por otro lado, los hongos también han sido estudiados y aplicados en la remediación de suelos co-contaminados con metales pesados y plaguicidas (Mendoza-Burguete et al., 2023; H. Zhang et al., 2020). Los hongos pueden absorber los contaminantes del suelo en su organismo y son más fáciles de separar del suelo en comparación con las bacterias. Además, los hongos secretan lacasa y MnP para promover la remediación. La presencia de hongos aumenta el recuento de microorganismos en el suelo, lo que da lugar a la degradación microbiana de los plaguicidas (Zhang et al., 2020).

Microorganismos como *Clitocybe maxima*, *Pleurotus eryngii* y *Coprinus comatus* han demostrado su eficacia en la recuperación de suelos contaminados con metales pesados y pesticidas. Otros géneros de hongos, como *Aspergillus sydowii*, *Penicillium griseofulvum*, *Trichoderma koningii* y *Paecilomyces marquandii*, también han demostrado la bioacumulación de metales pesados y la biodegradación de pesticidas (Zhang et al., 2020).

La biorremediación fúngica es efectiva en la descontaminación de suelos, y enfrenta desafíos en cuanto a la supervivencia de cepas introducidas y su capacidad de degradación en condiciones ambientales diversas. Se ha observado que los hongos exógenos tienen dificultades para sobrevivir y degradar contaminantes en suelos naturales, que difieren de su hábitat original. Investigaciones han demostrado que la eficacia de la degradación de los hongos introducidos puede ser disminuida por la microbiota funcional autóctona, que tiene una capacidad de utilizar fuentes de carbono y nutrientes. Sin embargo, aún no se conocen todos los detalles sobre la relación funcional entre los hongos exógenos y los degradadores autóctonos, que son esenciales para una biorremediación eficaz de suelos contaminados (Li et al., 2021).

Los hongos filamentosos presentan una forma típica de crecimiento hifal apical que les permite extender sus redes miceliales a diferentes tipos de materiales. La capacidad de penetración de las hifas de los hongos está asociada con su secreción de exoenzimas e hidrofobinas, lo que aumenta su adhesión a sustratos hidrofóbicos. Además, la falta de especificidad de las exoenzimas fúngicas les permite descomponer diferentes polímeros. Por ejemplo, las hidrolasas fúngicas (lipasas, carboxilesterasas, cutinasas y proteasas) pueden modificar la superficie del plástico, aumentando su hidrofiliidad. Estas enzimas también participan en la biodegradación de polietileno tereftalato (PET) y poliuretano (PUR) debido a la presencia de enlaces químicos hidrolizables en las estructuras del polímero. Por otro lado, las oxidorreductasas (lacasas y peroxidasas) participan en la degradación del plástico en moléculas más pequeñas, como oligómeros, dímeros y monómeros. Debido a sus enlaces carbono - carbono (C-C) altamente estables, los polímeros plásticos como polietileno (PE), poliestireno (PS), polipropileno (PP) y policloruro de vinilo (PVC) requieren oxidación antes del proceso de despolimerización (Temporiti et al., 2022).

En el caso de la biorremediación de metales pesados, los hongos utilizan principalmente dos técnicas para desintoxicar los metales: la biosorción, que implica la unión del metal a la superficie, y la bioacumulación, que implica la captación intracelular de metales a través del metabolismo celular. Algunos hongos conocidos por su capacidad de degradar estos contaminantes son *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus* sp. (*versicolor*, *terreus*, *niger* y *fumigatus*), *Penicillium chrysogenum* y *Gloeophyllum sepiarium* (Tufail et al., 2022). Adicionalmente, las cepas pertenecientes a *Fusarium*, *Verticillium*, *Penicillium* y *Aspergillus*, son capaces de producir nanopartículas metálicas que les permiten tolerar y eliminar metales pesados del agua o del suelo muy contaminados (Temporiti et al., 2022).

## 2.4 Biorreactores

El término "biorreactor" hace referencia a cualquier equipo o instalación fabricada que sirva de soporte a un sistema bioactivo (Silva et al., 2020). Se trata de un sistema en el que procesos biológicos controlados pueden convertir materias primas en productos específicos (Bala et al., 2022; D. K. Chaudhary & Kim, 2019). Los biorreactores proporcionan condiciones ideales para el crecimiento microbiano, lo que permite el proceso

de biorremediación ex situ de contaminantes (Bala et al., 2022; Gonçalves & Delabona, 2022) y tiene modos de funcionamiento por lotes, semicontinuo y continuo (Chaudhary & Kim, 2019; Jabbar et al., 2022).

Las reacciones biológicas pueden tener lugar cuando se controla y manipula el biorreactor (Bala et al., 2022). Los diseños de biorreactores pueden maximizar la degradación microbiana al tiempo que minimizan las pérdidas abióticas debido a su adaptabilidad (Bala et al., 2022). Los biorreactores están ampliamente considerados como uno de los métodos más eficaces para el tratamiento de suelos contaminados debido a su capacidad para controlar las condiciones de funcionamiento y aumentar la actividad de biodegradación microbiana (Silva et al., 2020).

El suelo contaminado se excava, se pretrata y después se introduce en el reactor, donde se mezcla con agua o aguas residuales para mantener la consistencia correcta (Chaudhary & Kim, 2019; Jabbar et al., 2022). El pretratamiento es un paso relevante para mejorar el rendimiento del sistema (Jabbar et al., 2022). Para texturas finas, es necesario triturar y cribar (Jabbar et al., 2022). A continuación, la suspensión se coloca en un reactor con agitación continua (Chaudhary & Kim, 2019). El biorreactor favorece los procesos normales de las células simulando y manteniendo su entorno natural para producir unas condiciones de crecimiento óptimas (Jabbar et al., 2022).

#### ***2.4.1 Biorreactor tipo tanques agitados***

Los biorreactores suelen construirse con materiales duraderos, como vidrio resistente o acero inoxidable, y se caracterizan por su forma cilíndrica y su volumen, que puede oscilar entre unos pocos litros y metros cúbicos (Silva et al., 2020). El biorreactor permite controlar diversos parámetros físicos y biológicos, como la temperatura, el pH, la aireación, la agitación, los inóculos bacterianos, los nutrientes y el sustrato (Chaudhary & Kim, 2019). El material contaminado puede suministrarse al reactor como sustancia seca o suspensión (Silva et al., 2020).

La biorremediación ex situ en biorreactores en fase de suspensión es un método eficaz para eliminar los contaminantes orgánicos del suelo. Consiste en suspender el suelo contaminado en una solución de agua y nutrientes, junto con bacterias nativas o exógenas.

La mezcla se agita y airea, lo que acelera la degradación de los contaminantes y reduce el tiempo necesario para la remediación. El método de suspensión favorece el contacto entre los contaminantes y las bacterias, aumentando así la concentración de contaminantes biodisponibles. Además, al adicionar agua se reduce la toxicidad de los contaminantes orgánicos por dilución. Este sistema permite controlar y optimizar fácilmente parámetros como el pH, la temperatura y las condiciones redox. El empleo de diferentes aceptores de electrones, disolventes o tensioactivos también puede mejorar la biodisponibilidad de los contaminantes (Balseiro-Romero et al., 2019).

Los biorreactores utilizan diversos tipos de dispositivos de mezcla para crear un sistema trifásico formado por sólidos, líquidos y gases. La formación de una biopelícula estimula la biodegradación de los contaminantes y aumenta el nivel de biomasa. Los biorreactores de lodos son un método seguro y sencillo para tratar los contaminantes de hidrocarburos (Silva et al., 2020).

En comparación con los métodos alternativos de biorremediación ex situ, el empleo de un biorreactor para remediar suelos contaminados ofrece varias ventajas (Bala et al., 2022; Silva et al., 2020; Gonçalves & Delabona, 2022; Jabbar et al., 2022). Un proceso de biorremediación basado en biorreactores que puedan regular con precisión el pH, la agitación, la temperatura, la aireación, la concentración de sustrato y la concentración de inóculo puede reducir significativamente el tiempo necesario para la biorremediación (Bala et al., 2022; da Silva et al., 2020; Gonçalves & Delabona, 2022). Otras ventajas de los biorreactores son su rápida cinética de reacción, su elevado control de emisiones, su estructura compacta (Jabbar et al., 2022) y la posibilidad de optimizar el proceso en combinación con otras estrategias (Gonçalves & Delabona, 2022).

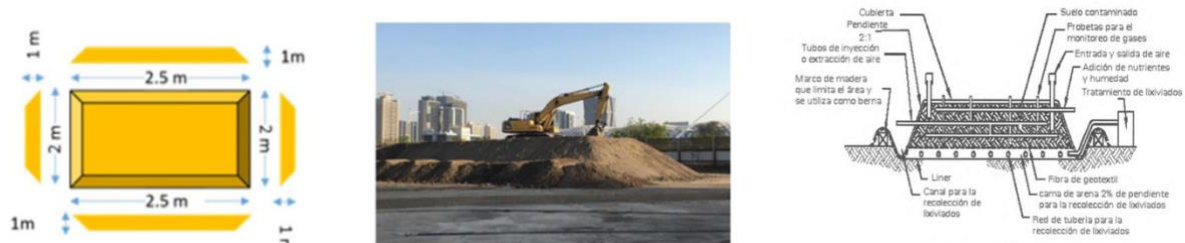
Los biorreactores se han estudiado con fines de biorremediación, tratando diversos contaminantes como metales pesados, pesticidas y compuestos orgánicos volátiles, incluidos BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) (Silva et al., 2020; Gonçalves & Delabona, 2022) e hidrocarburos de petróleo (Ambaye et al., 2022). Los biorreactores se consideran el mejor método para la biorremediación de suelos contaminados por petróleo debido a varias razones (Fanaei et al., 2023). En primer lugar, aumentan la tasa de transferencia de masa al mezclar partículas de suelo en agua, lo que mejora la biodisponibilidad de los contaminantes (Fanaei et al., 2023). En segundo lugar, los biorreactores diluyen los contaminantes en el

agua, reduciendo su toxicidad para los microorganismos (Fanaei et al., 2023). En tercer lugar, garantizan una mezcla completa (Fanaei et al., 2023). En cuarto lugar, optimizan el proceso de biodegradación controlando los parámetros de funcionamiento críticos para el crecimiento y el metabolismo microbianos (Fanaei et al., 2023). Por último, aumentan la tasa de biodegradación (Fanaei et al., 2023).

Los biorreactores se utilizan para remediar hidrocarburos totales de petróleo (TPH) (diésel y gasolina), hidrocarburos aromáticos policíclicos y otros contaminantes del suelo, consiguiendo tasas de eliminación de contaminantes del 60% al 100% (Chaudhary & Kim, 2019). Además, pueden utilizarse en suelos contaminados procedentes de sitios de baja temperatura, introducirse en contenedores junto con microorganismos para el tratamiento biológico. En consecuencia, la estrategia del biorreactor se considera una técnica prometedora para eliminar contaminantes de los suelos en regiones frías.

#### **2.4.2 Biopila**

Las biopilas son biomontículos que combinan el cultivo en tierra y el compostaje (Ajona & Vasanthi, 2021; Jabbar et al., 2022; Mani & Kumar, 2014; Ramadass et al., 2015) para crear un entorno favorable para los microorganismos aerobios autóctonos (Ajona & Vasanthi, 2021; Mani & Kumar, 2014; Ramadass et al., 2015). Esta técnica consiste en apilar el suelo contaminado excavado en una zona de tratamiento equipada con instalaciones para la aireación, el control de la temperatura y la humedad, y enmiendas nutritivas para promover la biodegradación principalmente potenciando la actividad microbiana (Ajona & Vasanthi, 2021; D. K. Chaudhary & Kim, 2019; da Silva et al., 2020; Jabbar et al., 2022; Mani & Kumar, 2014; Raffa & Chiampo, 2021; Ramadass et al., 2015). La tecnología implica irrigación, aireación y lixiviación (da Silva et al., 2020), tal como se muestra en la Figura 4.

**Figura 4***Biopila*

*Nota.* Imagen tomada (Iturbe-Argüelles et al., 2002; Liu et al., 2021b)

El sistema de biopilas consta de una cama de tratamiento formado por una losa de hormigón impermeable para minimizar la transferencia de lixiviados y se cubre con una membrana impermeable para evitar la emisión de contaminantes y la contaminación del suelo en el exterior, así como los efectos del viento y la lluvia (da Silva et al., 2020). Además, el sistema incluye un sistema de aireación, un sistema de irrigación/nutrientes y un sistema de recogida de lixiviados (Ramadass et al., 2015). Por lo tanto, el proceso consiste en suministrar aire u oxígeno y aplicar una solución que contenga nutrientes a la superficie del suelo para estimular la actividad microbiana (Raffa & Chiampo, 2021).

Las biopilas son una forma más avanzada de landfarming que ayuda a minimizar las pérdidas físicas de contaminantes por lixiviación y volatilización (Mani & Kumar, 2014; Ramadass et al., 2015). A diferencia de los sistemas de aireación mediante labranza y landfarming, la aireación de las biopilas se realiza mediante el suministro de oxígeno a través de tubos perforados (difusores) colocados a lo largo de la pila utilizando un compresor de aire (Jabbar et al., 2022).

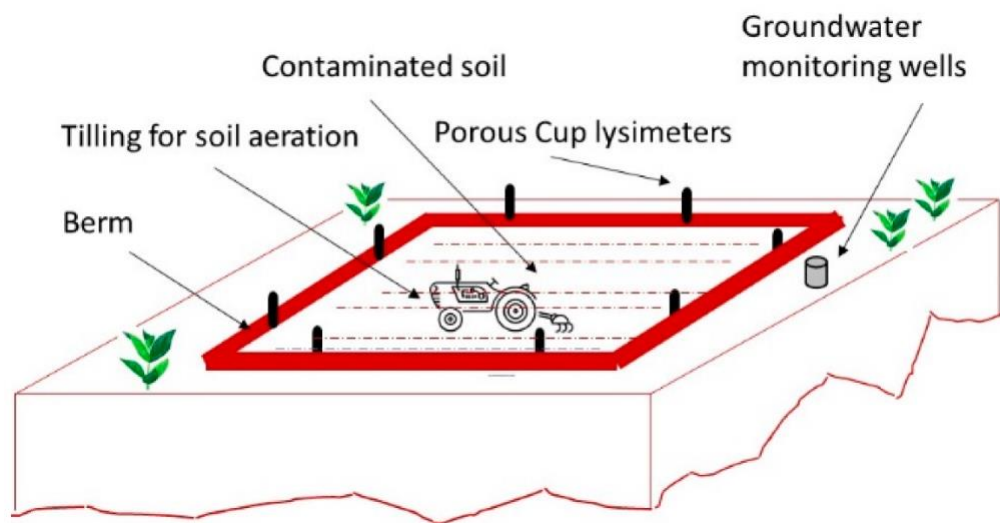
Las biopilas son eficientes en la reducción de la concentración de la mayoría de los productos derivados del petróleo (Ajona & Vasanthi, 2021; da Silva et al., 2020; Jabbar et al., 2022; Ramadass et al., 2015). Durante la aireación, las fracciones de petróleo más ligeras, como la gasolina, se evaporan parcialmente y se liberan, mientras que las fracciones de cadena media, como el diesel y el queroseno, son más biodegradables que evaporables (da Silva et al., 2020).

Las biopilas se han empleado con éxito para remediar entornos fríos contaminados y tratar contaminantes volátiles de bajo peso molecular (Bala et al., 2022). La adaptabilidad de la biopila permite reducir el tiempo de remediación al aumentar la actividad microbiana y la disponibilidad del contaminante, al tiempo que mejora la tasa de biodegradación (Bala et al., 2022; Dias et al., 2015). La introducción de aire caliente en el sistema de biopilas proporciona aire y calor simultáneamente, mejorando así la biorremediación (Bala et al., 2022).

Las biopilas son una tecnología de biorremediación rentable, respetuosa con el medio ambiente e intrusiva (Ramadass et al., 2015; Zhang et al., 2021). Cada vez se tiene más en cuenta por sus características constructivas y su favorable relación costo - beneficio, que permiten una biorremediación eficaz (da Silva et al., 2020).

#### ***2.4.3 Landfarming / el cultivo de la tierra***

El landfarming o cultivo en tierra es una técnica de biorremediación que consiste en mezclar suelos contaminados para mejorar sus propiedades físicas, biológicas y químicas, facilitando así la biodegradación eficaz de los contaminantes (da Silva et al., 2020; Jabbar et al., 2022). Para evitar la infiltración de los lixiviados al suelo, se coloca una cubierta impermeable sobre el suelo antes de iniciar el tratamiento (Raffa & Chiampo, 2021). En la Figura 5, se muestra el diagrama general del landfarming.

**Figura 5***Sistema típico de landfarming*

*Nota.* Fuente (Silva et al., 2020).

Normalmente, el landfarming utiliza en la capa superior del suelo a profundidades de hasta 50 cm. A menudo se adicionan adjuntos para aumentar la porosidad. El suelo contaminado se mezcla con retroexcavadora periódicamente para garantizar un suministro de aire adecuado (Chaudhary & Kim, 2019; Silva et al., 2020; Hassan et al., 2023; Jabbar et al., 2022; Mani & Kumar, 2014; Raffa & Chiampo, 2021).

Adicionalmente, el lixiviado, producido por la actividad biológica, el agua suministrada y la precipitación, se recoge en el fondo de la cuenca de tratamiento mediante un sistema de recogida de lixiviados. El nivel de humedad se mantiene mediante pulverización o riego, y el nivel ideal de pH se consigue adicionando sulfato de amonio o cal y azufre, en función de la alcalinidad y acidez del suelo. Se ha demostrado que el riego y el laboreo aumentan el número de microorganismos que intervienen en la biorremediación, lo que puede acelerar el proceso (Hassan et al., 2023).

Durante el tratamiento, los suelos deben controlarse trimestralmente para garantizar que la degradación alcanza niveles óptimos. Deben realizarse determinaciones de la población microbiana, el pH, la concentración de nutrientes, el contenido de humedad y la concentración de constituyentes. Los resultados de los análisis de laboratorio o de campo



deben utilizarse para ajustar la frecuencia de aireación, las tasas de aplicación de nutrientes y la adición de humedad (Silva et al., 2020).

El proceso de remediación de suelos contaminados mediante la tecnología de landfarming es un método relativamente sencillo y rentable que requiere un capital mínimo, tiene un mediano impacto ambiental y utiliza muy poca energía (Bala et al., 2022; Chaudhary & Kim, 2019; Silva et al., 2020; Hassan et al., 2023). También requiere un equipo mínimo (Chaudhary & Kim, 2019; Hassan et al., 2023). Este método es especialmente eficaz en zonas con escasas precipitaciones (275 mm), climas con altas tasas de evaporación (evaporación anual de 2700 mm) y grandes extensiones de tierra disponible (Silva et al., 2020).

El landfarming se ha utilizado en diversas condiciones ambientales, incluidos el frío extremo y los suelos áridos. Sin embargo, el cultivo en suelos fríos se ve dificultado por la inestabilidad de las temperaturas, los ciclos de congelación y descongelación, la humedad del suelo y la desecación en regiones polares, el Ártico Canadiense, Alaska y zonas subárticas (Chaudhary & Kim, 2019).

### 3. Biorremediación de glifosato en suelos

Hasta hace poco, el empleo del herbicida glifosato no se consideraba un riesgo medioambiental. Sin embargo, el glifosato se ha encontrado en diversas matrices ambientales y se ha relacionado con amenazas tanto para los seres humanos como para los ecosistemas. Como consecuencia, se han realizado investigaciones para desarrollar estrategias para limpiar y restaurar las zonas contaminadas con glifosato (Castrejón-Godínez et al., 2021).

El glifosato puede ser degradado por microorganismos (Castrejón-Godínez et al., 2021; Masotti et al., 2023; Nguyen et al., 2022; Singh et al., 2019; Spinelli et al., 2021; Zhang et al., 2022). Este proceso consiste en aislar y seleccionar microorganismos degradadores de glifosato que puedan utilizarse como agentes de biorremediación para restaurar los entornos contaminados con glifosato (Masotti et al., 2023; Zhang et al., 2022).

En la biorremediación de glifosato se emplean hongos porque poseen enzimas como lacasas y oxidorreductasas, que les permiten transformar compuestos naturales recalcitrantes y contaminantes orgánicos. En general, los hongos son capaces de metabolizar pesticidas y otros contaminantes orgánicos, transformándolos en formas menos tóxicas. Además, pueden degradar algunos contaminantes completamente, utilizándolos como fuentes de carbono y energía (Spinelli et al., 2021). De igual manera las bacterias también desempeñan un papel relevante en este proceso (Zhan, 2018).

La biorremediación microbiana se ha convertido en una estrategia dominante para la descontaminación del suelo en el siglo XXI (Zhang et al., 2022). A pesar de décadas de investigación, los niveles de contaminación siguen siendo elevados en muchas zonas, por lo que la biorremediación es un área prioritaria de investigación (Sagarkar et al., 2014). De la literatura revisada se encontró que son pocos los estudios sobre la biorremediación del glifosato en el suelo en condiciones de campo, a pesar de la amplia investigación de laboratorio sobre microorganismos capaces de degradar el glifosato (Masotti et al., 2023; Sagarkar et al., 2014).

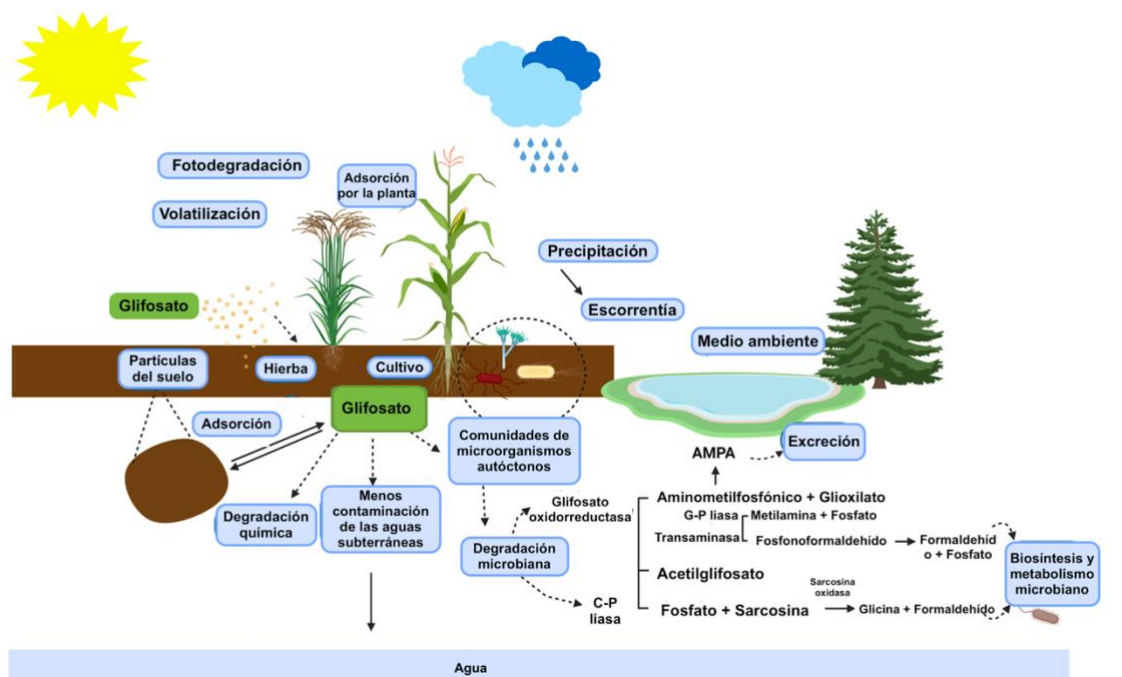
En la distribución del glifosato en el suelo influyen varios factores, entre ellos las propiedades intrínsecas del glifosato, como su capacidad de adsorción, solubilidad y persistencia, así como la composición del suelo, incluido el carbono orgánico, el pH, la arcilla, la capacidad de intercambio catiónico y la textura. Las condiciones climáticas, como

las precipitaciones y la temperatura, también influyen, al igual que las prácticas de cultivo y gestión. El glifosato puede ser degradado por los microorganismos nativos del suelo mediante el empleo de enzimas. Por lo tanto, el tamaño y la actividad de estas poblaciones microbianas desempeñan un papel relevante en la reducción de la concentración de glifosato en el medio ambiente (Aluffi et al., 2022).

El glifosato puede degradarse o eliminarse mediante tratamiento biológico o químico, así como por métodos abióticos como la adsorción, la termólisis y la fotodegradación (Manogaran et al., 2017; Nguyen et al., 2022; Xu et al., 2019) como se muestra en la Figura 6. Los métodos de tratamiento de residuos no naturales siguen planteando problemas para su posterior limpieza, como la contaminación secundaria. Los procesos de degradación química han demostrado ser ineficaces debido a la presencia de enlaces carbono - fósforo altamente estables en el compuesto (Manogaran et al., 2017). De esta forma, el empleo de microorganismos autóctonos que degradan el glifosato es la estrategia apropiada y ambientalmente prometedora para biodegradar el glifosato (Nguyen et al., 2022; Xu et al., 2019).

**Figura 6.**

*Distribución de glifosato en suelos.*

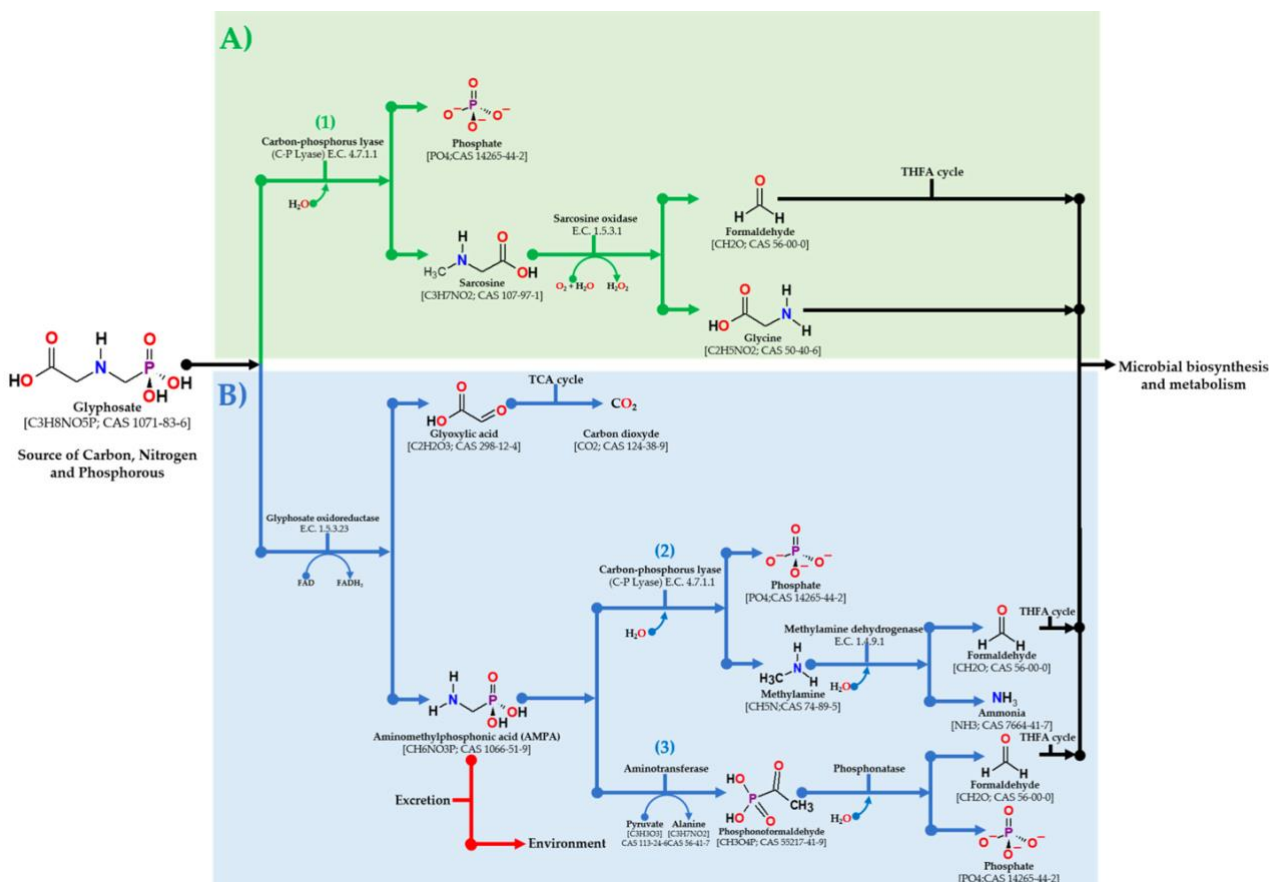


*Nota.* Imagen adapta de (Aluffi et al., 2022).

La degradación del glifosato en el suelo se consigue predominantemente mediante la degradación microbiana (Giaccio et al., 2023; Guo et al., 2022; Zhan, 2018). Este proceso depende de la calidad microbiológica del suelo y de la actividad de los microorganismos (Masotti et al., 2023; Mohy-Ud-Din et al., 2023; Saunders & Pezeshki, 2015). La mineralización del glifosato está positivamente correlacionada con la diversidad bacteriana y fúngica (Martins et al., 2023). Los hongos pueden desempeñar un papel importante en las fases iniciales de la degradación del glifosato al facilitar la posterior degradación bacteriana (Martins et al., 2023). Además, una comunidad microbiana tiene un mayor potencial de degradación en comparación con un solo aislado (Martins et al., 2023). En la actualidad, existen dos vías principales para la degradación microbiana del glifosato (Castrejón-Godínez et al., 2021; Masotti et al., 2023; Saunders & Pezeshki, 2015; Spinelli et al., 2021). En la Figura 7, se muestran las vías metabólicas empleadas por los microorganismos para degradar el glifosato.

**Figura 7.**

*Principales vías de biodegradación del glifosato por microorganismos.*



**Vía de liasa de carbono - fósforo (CP liasa):** los microorganismos que pueden metabolizar el glifosato como fuente de fósforo utilizan una vía en la que interviene la CP liasa (Aluffi et al., 2022). Esta vía implica a la enzima CP liasa, que genera fosfato y sarcosina a través de su actividad hidrolítica (Aluffi et al., 2022; Castrejón-Godínez et al., 2021; Nguyen et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023; Saunders & Pezeshki, 2015; S. Singh et al., 2019; Xu et al., 2019; Zhan, 2018). La sarcosina puede ser desmetilada en el aminoácido glicina y formaldehído a través de la actividad de la enzima sarcosina oxidasa (Aluffi et al., 2022; Castrejón-Godínez et al., 2021; Manogaran et al., 2017; Masotti et al., 2023; Ogunbiyi et al., 2023; Spinelli et al., 2021; Xu et al., 2019). La glicina se utiliza directamente para el metabolismo y la biosíntesis microbiana, mientras que el formaldehído entra en el ciclo del tetrahidrofolato (THFA) (Castrejón-Godínez et al., 2021). La conversión del glifosato en sarcosina depende en gran medida del suministro de fósforo (Ogunbiyi et al., 2023). Algunos microorganismos identificados con liasas de CP incluyen *Arthrobacter* sp. cepa GLP-1, *Rhizobium meliloti* 1021, *Pseudomonas pseudomallei* 22, *Streptomyces* sp. (Elarabi et al., 2020).

**Vía oxidorreductasa:** es la principal vía de degradación que favorece la mineralización del glifosato (Aluffi et al., 2022). En esta vía, la molécula de glifosato se descompone en dos metabolitos, el glioxilato y el ácido aminometilfosfónico (AMPA), por la enzima glifosato oxidorreductasa (GOX) (Aluffi et al., 2022; Castrejón-Godínez et al., 2021; Elarabi et al., 2020; Manogaran et al., 2017; Masotti et al., 2023; Mohy-Ud-Din et al., 2023; Nguyen et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023; Saunders & Pezeshki, 2015; Singh et al., 2019; Xu et al., 2019; Zhan, 2018). El glioxilato entra en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos y se oxida completamente, produciendo dióxido de carbono (Castrejón-Godínez et al., 2021; Hernández-Alomia et al., 2022; Mohy-Ud-Din et al., 2023). La enzima carbono - fósforo liasa (CP liasa) ayuda en la hidrólisis del AMPA a fosfato y metilamina (Castrejón-Godínez et al., 2021; Mohy-Ud-Din et al., 2023; Ogunbiyi et al., 2023; Spinelli et al., 2021). La metilamina se convierte entonces en amoníaco, que sirve como fuente directa de nitrógeno, y formaldehído, que entra en el ciclo del tetrahidrofolato (THFA) (Aluffi et al., 2022; Castrejón-Godínez et al., 2021; Ogunbiyi et al., 2023; Xu et al., 2019). Además, la enzima aminotransferasa convierte el AMPA en fosfonoformaldehído en la misma vía (Castrejón-Godínez et al., 2021). La enzima fosfonatasa convierte el fosfonoformaldehído en fosfato y formaldehído, que entran en la vía del THFA (Castrejón-Godínez et al., 2021; Ogunbiyi et al., 2023). El glifosato es manipulado a través de la vía AMPA por la glifosato oxidorreductasa en varias bacterias, como *Arthrobacter atrocyaneus* ATCC 13752, *Flavobacterium* sp. cepa GD1 *Agrobacterium radiobacter* (Elarabi et al., 2020).

**Vía alternativa de degradación de AMPA:** una tercera vía implica la transformación de glifosato en acetilglifosato (Ogunbiyi et al., 2023), los microorganismos no pueden utilizar más el acetilglifosato como fuente de fósforo. Por ejemplo, la cepa *Achromobacter* sp. Kg 16 utiliza el glifosato como única fuente de fósforo, y lo transforma en acetilglifosato. Como resultado, el crecimiento de la cepa se ve comprometido porque no puede obtener nutrientes adicionales de este metabolito (Aluffi et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023).

La actividad microbiana del suelo es relevante en la degradación del glifosato, con tasas de degradación que varían ampliamente. La disipación del 50% del glifosato puede tardar entre 1,2 y 197,3 días. Los microorganismos utilizan el glifosato como fuente de fósforo para producir glicina o de carbono para producir ácido aminometilfosfónico (AMPA)

(Elarabi et al., 2020; Guo et al., 2022). Algunos microorganismos también utilizan el glifosato como fuente de fosfato, carbono o nitrógeno, dando lugar a la formación de nuevos compuestos a través de diversas vías de degradación (Castrejón-Godínez et al., 2021; Elarabi et al., 2020; Guo et al., 2022). Durante el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos, la demanda de fuentes de carbono es mucho mayor que la de fuentes de nitrógeno o fósforo (Guo et al., 2022).

Las bacterias son los microorganismos más comúnmente reportados debido a que poseen enzimas hidrolíticas de carbono - fósforo (C - P) necesarias para la biorremediación del glifosato (Ogunbiyi et al., 2023). Las cepas bacterianas del suelo tolerantes al glifosato tienen efectos combinados, como la capacidad de degradar residuos de glifosato y segregar hormonas promotoras del crecimiento (Mohy-Ud-Din et al., 2023). Las bacterias pueden adquirir los nutrientes necesarios, como carbono, nitrógeno y fósforo, utilizando los subproductos de la descomposición (Castrejón-Godínez et al., 2021; Ogunbiyi et al., 2023; Singh et al., 2019). Se han informado que algunas especies bacterianas, como *Pseudomonas* (Castrejón-Godínez et al., 2021), *Arthrobacter*, *Rhizobium* y *Agrobacterium*, utilizan el glifosato como única fuente de fósforo en un medio de cultivo líquido sin fósforo (Benslama & Boulahrouf, 2016).

Del mismo modo, se ha informado que varias especies de bacterias, como *Bacillus megaterium*, *Alcaligenes* sp., *Flavobacterium* sp. y *Geobacillus caldxylosilyticus*, utilizan el glifosato como única fuente de fósforo (Benslama & Boulahrouf, 2016). La literatura ha explorado el potencial de varios hongos para degradar el glifosato y la provisión de una fuente de carbono, nitrógeno o fósforo. Entre los principales géneros de hongos se encuentran *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma* (Ogunbiyi et al., 2023).

Se han identificado especies bacterianas capaces de biodegradar el glifosato en varios géneros bacterianos *Achromobacter* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Masotti et al., 2023; Nguyen et al., 2022; S. Singh et al., 2019), *Agrobacterium* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Guo et al., 2022; Masotti et al., 2023), *Alcaligenes* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Nguyen et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023), *Arthrobacter* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Hernández-Alomia et al., 2022; Nguyen et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023; Singh et al., 2019), *Bacillus* (Hernández-Alomia et al., 2022; Masotti et al., 2023; Nguyen et al., 2022; W. Zhang et al., 2022), *Enterobacter* (Hernández-Alomia et al., 2022; Masotti et al., 2023; Nguyen et al.,

2022), *Ochrobactrum* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Guo et al., 2022; Masotti et al., 2023; Singh et al., 2019; Zhang et al., 2022), *Pseudomonas* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Guo et al., 2022; Hernández-Alomia et al., 2022; Manogaran et al., 2017; Masotti et al., 2023; Nguyen et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023; S. Singh et al., 2019; Zhang et al., 2022), *Chryseobacterium* (Masotti et al., 2023), *Lysinibacillus* (Masotti et al., 2023; Rodríguez et al., 2019), *Rhodococcus* (Masotti et al., 2023), *Acinetobacter* (Zhang et al., 2022), *Geobacillus* (Nguyen et al., 2022) y *Flavobacterium* (Nguyen et al., 2022). Dentro de esto géneros destacan especies como *L. sphaericus* (Rodríguez et al., 2019), *Bacillus cereus* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Elarabi et al., 2020; Manogaran et al., 2017), *Pseudomonas fluorescens* (Elarabi et al., 2020; Mohy-Ud-Din et al., 2023), *Arthrobacter atrocyaneus* (Mohy-Ud-Din et al., 2023), *Flavobacterium* sp. (Manogaran et al., 2017; Mohy-Ud-Din et al., 2023; S. Singh et al., 2019), *Agrobacterium radiobacter* (Castrejón-Godínez et al., 2021), *Agrobacterium tumefaciens* (Guo et al., 2022), *Providencia rettgeri* (Guo et al., 2022), *Enterobacter aerogenes* (Hernández-Alomia et al., 2022), *Enterobacter cloacae* (Elarabi et al., 2020; Manogaran et al., 2017), *Geobacillus caldoxylosilyticus* (Hernández-Alomia et al., 2022; Manogaran et al., 2017) y *Ochrobactrum anthropic* (Elarabi et al., 2020; Manogaran et al., 2017), cabe destacar que las cepas más activas en la degradación del glifosato se aislaron generalmente de suelos contaminados con este herbicida (Elarabi et al., 2020).

En comparación, con la degradación bacteriana del glifosato, se ha investigado menos la degradación del glifosato por hongos. Los hongos filamentosos son capaces de colonizar diversos sustratos y oxidar la materia orgánica en condiciones ambientales adversas (Guo et al., 2022). Entre los hongos que han demostrado su capacidad para degradar el glifosato se encuentran los géneros *Aspergillus* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Masotti et al., 2023; Ogunbiyi et al., 2023; S. Singh et al., 2019; Spinelli et al., 2021), *Fusarium* (Guo et al., 2022; Masotti et al., 2023; Ogunbiyi et al., 2023; Spinelli et al., 2021), *Penicillium* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Masotti et al., 2023; Ogunbiyi et al., 2023; Singh et al., 2019; Spinelli et al., 2021), *Trichoderma* (Castrejón-Godínez et al., 2021; Masotti et al., 2023; Ogunbiyi et al., 2023; Singh et al., 2019; Spinelli et al., 2021). Se encontró que el género *Mucor* sólo crece en medios con glifosato como fuente de fósforo (Aluffi et al., 2020; Spinelli et al., 2021) y que *Penicillium chrysogenum* (Castrejón-Godínez et al., 2021) tolera el glifosato



como molécula pura, ya que fue capaz de crecer en presencia de altas concentraciones. Del mismo modo, *Fusarium solani* y *Fusarium oxysporum* también han mostrado tolerancia a altas dosis de glifosato (Spinelli et al., 2021). En cambio, las pruebas de una o más formulaciones comerciales a base de glifosato han demostrado que *T. viride*, *T. inhamatum*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. oryzae* son capaces de tolerar y degradar estos productos (Spinelli et al., 2021).

En la Tabla 5 se muestran los microorganismos empleados en la biorremediación del glifosato.

**Tabla 5.** Microorganismos empleados en la biorremediación del glifosato.

Microorganismo	Técnica		Condiciones operacionales			Medio enriquecido	Tiempo	Concentración del glifosato	Glifosato como fuente de	Tipo de ruta de degradación	Eficiencia	Referencia
	In situ	Ex situ	Temperatura	Humedad	pH							
<b>Bacterias</b>												
<i>Achromobacter</i> sp. Kg16		x	22–24 °C	Entre 14 y el 19%			21 días	60 mg kg <sup>-1</sup>	P	AMPA C-P Liasa	66%	(Masotti et al., 2023)
<i>Ochrobactrum anthropi</i> GPK3		x	22–24 °C	Entre 14 y el 19%			21 días	60 mg kg <sup>-1</sup>	P	Tanto la AMPA como la sarcosina	50%	(Masotti et al., 2023; Xu et al., 2019; Zhan, 2018)
<i>Achromobacter</i> sp. Kg16	x		Noturna 12 a 17 °C Duirna 18 a 28 °C	7 al 9% al 18 al 21%			28 días	60 mg kg <sup>-1</sup>	P	AMPA C-P Liasa	75%	(Masotti et al., 2023)
<i>Ochrobactrum anthropi</i> GPK3	x		Noturna 12 a 17 °C Duirna 18 a 28 °C	7 al 9% al 18 al 21%			28 días	60 mg kg <sup>-1</sup>	P	AMPA C-P Liasa	61%	(Masotti et al., 2023)
<i>Achromobacter aegrifaciens</i> MPK7		x					21 días	33 mg kg <sup>-1</sup>	P	La vía de la sarcosina	51%	(Masotti et al., 2023; Zhan, 2018)
<i>Achromobacter insolitus</i> Km11		x					21 días	32 mg kg <sup>-1</sup>	P		56%	(Masotti et al., 2023)
<i>Pseudomonas</i> sp. GA07		x					18 días	50 mg kg <sup>-1</sup>	C		73%	(Masotti et al., 2023)
<i>Pseudomonas</i> sp. GA09		x					18 días	50 mg kg <sup>-1</sup>	C		54%	(Masotti et al., 2023)
<i>Pseudomonas</i> sp. GC04		x					18 días	50 mg kg <sup>-1</sup>	C		81%	(Masotti et al., 2023)

Microorganismo	Técnica		Condiciones operacionales			Medio enriquecido	Tiempo	Concentración del glifosato	Glifosato como fuente de	Tipo de ruta de degradación	Eficiencia	Referencia
	In situ	Ex situ	Temperatura	Humedad	pH							
<i>Bacillus subtilis</i> Bs-15		x					4 días	5000 MG L <sup>-1</sup> agregados a 50 g de suelo	C/P		72%	(Masotti et al., 2023; W. Zhang et al., 2022)
<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	x						30 días	1690 mg L <sup>-1</sup>	C/P	C-P Liasa	79%	(Guo et al., 2022; Masotti et al., 2023; Ogunbiyi et al., 2023; Rodríguez et al., 2019)
<i>Chryseobacterium</i> sp. Y16C		x	20 °C y 40 °C		5 a 9		5 días	400 mg kg <sup>-1</sup>	C		76%	(Masotti et al., 2023; W. Zhang et al., 2022)
<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i> Y4B		x					5 días	400 mg kg <sup>-1</sup>	C		90%	(Masotti et al., 2023)
<i>Rhodococcus soli</i> G41		x					14 días	2 mg mg kg <sup>-1</sup>	C		47%	(Masotti et al., 2023; Nguyen et al., 2022)
Consortio microbiano: <i>Bacillus aryabhatai</i> , <i>Pseudomonas azotoformans</i> y <i>Sphingomonas pseudosanguinis</i>		x				Caldo dextrosa de sabouraud	11 días	700 mL			>90%	(Korkmaz et al., 2021)
<i>Bacillus tropicus</i> cepa UMTFA (GP1) y <i>Proteus mirabilis</i> cepa UMTFA2 (GP2).		x	37 °C		7	Sal mineral		0,05 M	C/P			(Ibrahim et al., 2023)

Microorganismo	Técnica		Condiciones operacionales			Medio enriquecido	Tiempo	Concentración del glifosato	Glifosato como fuente de	Tipo de ruta de degradación	Eficiencia	Referencia
	In situ	Ex situ	Temperatura	Humedad	pH							
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> BZ8		x	37 °C		5		2000 mg L <sup>-1</sup>				62%	(Guo et al., 2022)
<i>Comamonas odontotermitis</i> P2		x	29,9 °C		7,4	Medio de enriquecimiento	104 horas	1,5 mg L <sup>-1</sup>	C/P	Vías AMPA y sarcosina	90%	(Firdous et al., 2020; Guo et al., 2022; Ogunbiyi et al., 2023; Zhan, 2018)
<i>Burkholderia</i> sp. AQ5-12		x	30 °C		6	Sal mineral	12 horas	50 ppm	P		91%	(Guo et al., 2022)
<i>Bacillus cereus</i>		x	28 °C				240 horas	1 mM	P		63,2%	(Zhang et al., 2022)
<i>Enterobacter cloacae</i> K7		x			6.8-7	Sales minerales medio sólido Luria-Bertani (LB)	5 días	5 mM (845 mg L <sup>-1</sup> )	P	La vía de la sarcosina	40%	(Ogunbiyi et al., 2023; Xu et al., 2019; W. Zhang et al., 2022)
<i>Ochrobactrum haematophilum</i> P6BS-III y <i>Rhizobium</i> sp. P44RR-XXIV		x	25 °C			Caldo MSB	9 días	50 mg L <sup>-1</sup>			50%	(Zhang et al., 2022)
<i>Ochrobactrum</i> sp. DGG-1-3, <i>Ochrobactrum</i> sp. Ge-14, <i>Ochrobactrum</i> sp. B18 and <i>Pseudomonas citronellolis</i> ADA-23B		x					15 días	50 mg L <sup>-1</sup>			>60%	(Zhang et al., 2022)

Microorganismo	Técnica		Condiciones operacionales			Medio enriquecido	Tiempo	Concentración del glifosato	Glifosato como fuente de	Tipo de ruta de degradación	Eficiencia	Referencia
	In situ	Ex situ	Temperatura	Humedad	pH							
<i>Bacillus cereus</i> CB4		x	35 °C		6	Medio de sales minerales	5 días	6 g L <sup>-1</sup>	C/P	Tanto la AMPA como la sarcosina	94,47%	(Ogunbiyi et al., 2023; Xu et al., 2019; W. Zhang et al., 2022)
<i>Ochrobactrum intermedium</i> Sq20		x				Medio Luria-Bertani y medio de sales minerales	4 días	500 mg L <sup>-1</sup>	C	Vía de la sarcosina	100%	(Ogunbiyi et al., 2023; Xu et al., 2019)
<i>Burkholderia vietnamiensis</i> AQ5-12 <i>Burkholderia</i> sp. AQ5-13		x	30 °C–40 °C		6.25 -8	Medios con bajo contenido en fosfatos			P		74%-91%	(Manogaran et al., 2017; Ogunbiyi et al., 2023)
<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Rhizobium leguminosarum</i> , <i>Streptomyces</i> sp.		x	35 °C				5 días			Tanto la AMPA como la sarcosina	86%-17% - 89.77%	(Ogunbiyi et al., 2023; S. Singh et al., 2019)
<i>Bacillus Megaterium</i>		x				Medios de sales minerales, Medios de Sperber	2 meses	25 ppm	C/N		70%	(Ogunbiyi et al., 2023)
<i>Providencia rettgeri</i>		x	35 °C		7	Medio LB	24 horas	10,000 mg L <sup>-1</sup>			71,4%	(Xu et al., 2019)
<i>Ochrobactrum</i> sp. (GDOS)		x					60 horas	3 mM	P	Vía AMPA	100%	(Xu et al., 2019; Zhan, 2018)
<b>Hongos</b>												

Microorganismo	Técnica		Condiciones operacionales			Medio enriquecido	Tiempo	Concentración del glifosato	Glifosato como fuente de	Tipo de ruta de degradación	Eficiencia	Referencia
	In situ	Ex situ	Temperatura	Humedad	pH							
<i>Aspergillus oryzae</i> AM1		x	28 °C			Caldo medio Czapek Dox (CZ)	13 días	10 mM	C/N	Glifosato oxidorreductasa	57%	(Ogunbiyi et al., 2023)
<i>Aspergillus oryzae</i> A-F02		x	30 °C					100 mL	P	C – P liasa y glifosato oxidorreductasa	66,9%	(Ogunbiyi et al., 2023; Zhan, 2018)
<i>Aspergillus flavus</i> cepa JN-YG-3-5, <i>Aspergillus niger</i> cepa APBDSDF96, <i>Aspergillus fumigatus</i> cepa FJAT-31052 y <i>Aspergillus flavus</i> cepa APBSWTPF130, <i>Trichoderma derma gamsii</i> y <i>Penicillium simplicissimum</i>		x				Medio de agar salino	32 días	100 ppm		Glifosato oxidorreductasa	19,9%-85,6%	(Ogunbiyi et al., 2023)
<i>Trichoderma harzianum</i> MT871998		x				Medio líquido de sales minerales		1000 ppm			78,1%	(Ogunbiyi et al., 2023)
<i>Aspergillus</i> 2B112, <i>Penicillium</i> 4A21, <i>Trichoderma</i>		x	25 °C		6				P	Glifosato oxidorreductasa	8%–60%	(Ogunbiyi et al., 2023)

Microorganismo	Técnica		Condiciones operacionales			Medio enriquecido	Tiempo	Concentración del glifosato	Glifosato como fuente de	Tipo de ruta de degradación	Eficiencia	Referencia
	In situ	Ex situ	Temperatura	Humedad	pH							
<i>Aspergillus section Flavi</i>		x					15 días	50 mM	P/N		>50%	(Aluffi et al., 2020)
<i>Fusarium verticillioides</i>		x					28 días	60 mg kg <sup>-1</sup>	C		89%	(Guo et al., 2022; Masotti et al., 2023)
<i>Purpureocillium lilacinum</i>		x	25 °C en la oscuridad			Medio líquido Czapeck dox	24 días		P		80%	(Spinelli et al., 2021)
Algas												
<i>Oscillatoria limnetica</i>		x						5 mg L <sup>-1</sup>			85%	(Ogunbiyi et al., 2023)

La Tabla 5 presenta estudios recientes sobre la degradación del glifosato por diversos microorganismos. En total, se identificaron 38 especies bacterianas de 17 géneros con capacidad para degradar el glifosato. La importancia de estas especies, basada en el número de estudios realizados sobre ellas, se presenta a continuación: Las cepas bacterianas enumeradas en el texto, en orden decreciente de eficacia de degradación del herbicida, son *Bacillus*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Chryseobacterium*, *Comamonas*, *Enterobacter*, *Lysinibacillus*, *Proteus*, *Providencia*, *Rhodococcus*, *Stenotrophomonas*, *Sphingomonas* y *Streptomyces*. En general, estas cepas mostraron diversos porcentajes de eficiencias en la degradación del herbicida, que oscilaron entre el 40% y el 100%.

En la literatura revisada se encontró un número limitado de géneros de hongos capaces de degradar el herbicida glifosato y utilizarlo como fuente de carbono, fósforo o nitrógeno. En la Tabla 5 se enumeran 15 especies de hongos pertenecientes a 5 géneros (*Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Purpureocillium*) presentando porcentajes de eficiencia de degradación del herbicida, que oscilan entre el 19,9% y el 80%.

De igual manera, sólo se encontró la especie de alga *Oscillatoria limnetica* como degradadora el glifosato. El porcentaje de eficiencia de degradación del herbicida osciló generalmente entre el 38% y el 85%. La variación en las tasas de degradación de esta especie en particular puede ser consecuencia de su exposición a diferentes concentraciones de glifosato.

En la Tabla 5, se observó que las bacterias son los microorganismos más investigados para la biorremediación del glifosato, seguidas de los hongos y las algas. Además, los estudios sobre bacterias han evaluado concentraciones de glifosato más elevadas (10.000 mg/L) en comparación con los hongos y las algas (5-20 mg/L).

Es importante anotar que en Colombia se ha investigado la capacidad de *L. sphaericus*, un microorganismo endémico que ha sido utilizado con éxito en otros procesos de biodegradación (Rodríguez et al., 2019). Su aplicación no parece representar una amenaza para la ecología del suelo. *L. sphaericus* degrada el glifosato a través de la vía de oxidación de la sarcosina (Rodríguez et al., 2019). A diferencia de otros microorganismos que también utilizan la vía de la sarcosina, *L. sphaericus* no es un microorganismo patógeno y no supone un riesgo para la salud de los animales y plantas cercanas (Rodríguez et al., 2019). Además,



favorece el crecimiento en el suelo y ofrece una nueva alternativa para la biorremediación de las tierras de cultivo tratadas con glifosato (Rodríguez et al., 2019).

La investigación sobre la degradación del glifosato se ha centrado principalmente en las bacterias, aunque se sugiere investigar más en este campo (Ogunbiyi et al., 2023; Xu et al., 2019). En la actualidad, se utilizan cultivos puros de bacterias para probar la degradación del glifosato, aunque explorar el empleo de cultivos mixtos podría mejorar su eficacia como se mencionó anteriormente (Ogunbiyi et al., 2023). La mayoría de los estudios en este campo se han realizado a nivel de laboratorio (Ogunbiyi et al., 2023). Sin embargo, faltan datos para aplicar este enfoque a mayor escala, lo que podría lograrse si se aplica la biorremediación en campo empleando biopilas o landfarming, utilizando operaciones simultáneas de bioaumentación, bioestimulación, bioventilación y condiciones operacionales como las mencionadas en los ítems de biorremediación.

**Bibliografía**

- Afedzi, A. E. K., & Parakulsuksatid, P. (2023). Recent advances in process modifications of simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of lignocellulosic biomass for bioethanol production. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *54*, 102961. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102961>
- Ajona, M., & Vasanthi, P. (2021). Bioremediation of petroleum-contaminated soil: A Review. *Materials Today: Proceedings*, *45*(Part 7), 7117–7122. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.01.949>
- Aluffi, M. E., Carranza, C. S., Benito, N., Magnoli, K., Magnoli, C. E., & Barberis, C. L. (2020). Isolation of culturable mycota from Argentinean soils exposed or not-exposed to pesticides and determination of glyphosate tolerance of fungal species in media supplied with the herbicide. *Revista Argentina de Microbiologia*, *52*(3), 221–230. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.11.003>
- Aluffi, M. E., Carranza, C. S., Magnoli, K., Barberis, C. L., & Magnoli, C. E. (2022). Implications of the Use of Glyphosate-Based Herbicides in Agriculture in Argentina—Contribution of Fungi to the Development of Bioremediation Strategies. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *22*, 3428–3446. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-00897-7>
- Amândio, M. S. T., Rocha, J. M. S., & Xavier, A. M. R. B. (2024). Fed-batch SSF with pre-saccharification as a strategy to reduce enzyme dosage in cellulosic ethanol production. *Fuel*, *357*(Part C), 129842. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2023.129842>
- Ambaye, T. G., Chebbi, A., Formicola, F., Rosatelli, A., Prasad, S., Gomez, F. H., Sbaffoni, S., Franzetti, A., & Vaccari, M. (2022). Ex-situ bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil using mixed stimulants: Response and dynamics of bacterial community and phytotoxicity. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *10*(6), 108814. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108814>
- Bala, S., Garg, D., Thirumalesh, B. V., Sharma, M., Sridhar, K., Inbaraj, B. S., & Tripathi, M. (2022). Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. *Toxics*, *10*(8), 484. <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>

- Balseiro-Romero, M., Monterroso, C., Kidd, P. S., Lu-Chau, T. A., Gkorezis, P., Vangronsveld, J., & Casares, J. J. (2019). Modelling the ex situ bioremediation of diesel-contaminated soil in a slurry bioreactor using a hydrocarbon-degrading inoculant. *Journal of Environmental Management*, 246, 840–848. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.06.034>
- Banat, I. M., Carboué, Q., Saucedo-Castañeda, G., & de Jesús Cázares-Marinero, J. (2021). Biosurfactants: The green generation of speciality chemicals and potential production using Solid-State fermentation (SSF) technology. *Bioresource Technology*, 320, 124222. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124222>
- Barba, S., Villaseñor, J., Rodrigo, M. A., & Cañizares, P. (2021). Biostimulation versus bioaugmentation for the electro-bioremediation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid polluted soils. *Journal of Environmental Management*, 277, 111424. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111424>
- Benbrook, C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S12302-016-0070-0/FIGURES/4>
- Benslama, O., & Boulahrouf, A. (2016). High-quality draft genome sequence of *Enterobacter* sp. BispH2, a glyphosate-degrading bacterium isolated from a sandy soil of Biskra, Algeria. *Genomics Data*, 8, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2016.03.005>
- Cara, I. G., Sopa, D., Puiu, I., & Jitoreanu, G. (2022). Biochar a Promising Strategy for Pesticide-Contaminated Soils. *Agriculture*, 12(10), 1579.
- Caro, I., Marzo-Gago, C., Díaz, A. B., & Blandino, A. (2024). Modelling and optimization of simultaneous saccharification and fermentation of agro-food residues. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 12(1), 11862. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111862>
- Castrejón-Godínez, M. L., Tovar-Sánchez, E., Valencia-Cuevas, L., Rosas-Ramírez, M. E., Rodríguez, A., & Mussali-Galante, P. (2021). Glyphosate Pollution Treatment and Microbial Degradation Alternatives, a Review. *Microorganisms*, 9(11), 2322. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9112322>
- Castro Rodríguez, D. J., Gutiérrez Benítez, O., Casals Pérez, E., Demichela, M., Godio, A., & Chiampo, F. (2022). Bioremediation of Hydrocarbon-Polluted Soil: Evaluation of

- Different Operative Parameters. *Applied Sciences*, 12(4), 2012. <https://doi.org/10.3390/app12042012>
- Celin, S. M., Sahai, S., Kalsi, A., & Bhanot, P. (2020). Environmental monitoring approaches used during bioremediation of soils contaminated with hazardous explosive chemicals. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 26, e00088. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2020.e00088>
- Chaudhary, D. K., & Kim, J. (2019). New insights into bioremediation strategies for oil-contaminated soil in cold environments. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 142, 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.05.001>
- Chaudhary, P., Xu, M., Ahamad, L., Chaudhary, A., Kumar, G., Adeleke, B. S., Verma, K. K., Hu, D. M., Širić, I., Kumar, P., Popescu, S. M., & Abou Fayssal, S. (2023). Application of Synthetic Consortia for Improvement of Soil Fertility, Pollution Remediation, and Agricultural Productivity: A Review. *Agronomy*, 13(3), 643. <https://doi.org/10.3390/agronomy13030643>
- Chávez-Ortiz, P., Tapia-Torres, Y., Larsen, J., & García-Oliva, F. (2022). Glyphosate-based herbicides alter soil carbon and phosphorus dynamics and microbial activity. *Applied Soil Ecology*, 169, 104256. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104256>
- Covaci, A. (2014). Environmental Fate and Behavior. *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 372–374. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01041-1>
- Crecca, V. de M. T., da Silva, J. M., & de Souza, P. A. R. (2023). Technological prospecting: Patent mapping of bioremediation of soil contaminated with agrochemicals using fungi. *World Patent Information*, 73, 102196. <https://doi.org/10.1016/j.wpi.2023.102196>
- Cuhra, M., Bøhn, T., & Cuhra, P. (2016). Glyphosate: Too much of a good thing? *Frontiers in Environmental Science*, 4(28). <https://doi.org/10.3389/FENV.2016.00028/BIBTEX>
- da Silva, I. G. S., de Almeida, F. C. G., da Rocha e Silva, N. M. P., Casazza, A. A., Converti, A., & Sarubbo, L. A. (2020). Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. *Energies*, 13(18), 4664. <https://doi.org/10.3390/en13184664>
- Daccò, C., Nicola, L., Temporiti, M. E. E., Mannucci, B., Corana, F., Carpani, G., & Tosi, S. (2020). Trichoderma: Evaluation of its degrading abilities for the bioremediation of hydrocarbon complex mixtures. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(9), 3152. <https://doi.org/10.3390/app10093152>

- Dias, R. L., Ruberto, L., Calabró, A., Balbo, A. Lo, Del Panno, M. T., & Mac Cormack, W. P. (2015). Hydrocarbon removal and bacterial community structure in on-site biostimulated biopile systems designed for bioremediation of diesel-contaminated Antarctic soil. *Polar Biology*, *38*(5), 677–687. <https://doi.org/10.1007/s00300-014-1630-7>
- Drewnowski, J., Remiszewska-Skwarek, A., Duda, S., & Łagód, G. (2019). Aeration process in bioreactors as the main energy consumer in a wastewater treatment plant. Review of solutions and methods of process optimization. *Processes*, *7*(5), 311. <https://doi.org/10.3390/pr7050311>
- El Salamony, D. H., Salah Eldin Hassouna, M., Zaghloul, T. I., & Moustafa Abdallah, H. (2024). Valorization of chicken feather waste using recombinant bacillus subtilis cells by solid-state fermentation for soluble proteins and serine alkaline protease production. *Bioresource Technology*, *393*, 130110. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.130110>
- Elarabi, N. I., Abdelhadi, A. A., Ahmed, R. H., Saleh, I., Arif, I. A., Osman, G., & Ahmed, D. S. (2020). Bacillus aryabhatai FACU: A promising bacterial strain capable of manipulate the glyphosate herbicide residues. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *27*(9), 2207–2214. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.050>
- EPA, (United States Environmental Protection Agency). (2023). *Bioremediation*. <https://clu-in.org/techfocus/default.focus/sec/Bioremediation/cat/Overview/>
- Fanaei, F., Moussavi, G., & Shekoohiyan, S. (2023). Enhanced bioremediation of oil-contaminated soil in a slurry bioreactor by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-stimulation of oil-degrading/biosurfactant-generating bacteria: performance optimization and bacterial metagenomics. *Biodegradation*, *34*, 83–101. <https://doi.org/10.1007/s10532-022-10008-z>
- Firdous, S., Iqbal, S., & Anwar, S. (2020). Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel Comamonas odontotermitis P2 through response surface methodology. *Pedosphere*, *30*(5), 618–627. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60381-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60381-3)
- Giaccio, G. C. M., Saez, J. M., Estévez, M. C., Salinas, B., Corral, R. A., De Gerónimo, E., Aparicio, V., & Álvarez, A. (2023). Developing a glyphosate-bioremediation strategy using plants and actinobacteria: Potential improvement of a riparian environment.

- Journal of Hazardous Materials*, 446, 130675.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130675>
- Goma-Tchimbakala, E. J. C. D., Pietrini, I., Dal Bello, F., Goma-Tchimbakala, J., Lo Russo, S., & Corgnati, S. P. (2022). Great Abilities of *Shinella zoogloeoides* Strain from a Landfarming Soil for Crude Oil Degradation and a Synergy Model for Alginate-Bead-Entrapped Consortium Efficiency. *Microorganisms*, 10, 1361.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms10071361>
- Gonçalves, C. R., & Delabona, P. da S. (2022). Strategies for bioremediation of pesticides: challenges and perspectives of the Brazilian scenario for global application – A review. *Environmental Advances*, 8, 100220. <https://doi.org/10.1016/J.ENVADV.2022.100220>
- González-Valenzuela, L. E., & Dussán, J. (2018). Molecular assessment of glyphosate-degradation pathway via sarcosine intermediate in *Lysinibacillus sphaericus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 22790–22796.  
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-2364-9>
- Guo, J., Song, X., Li, R., Zhang, Q., Zheng, S., Li, Q., & Tao, B. (2022). Isolation of a degrading strain of *Fusarium verticillioides* and bioremediation of glyphosate residue. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 182, 105031.  
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.105031>
- Háhn, J., Kriszt, B., Tóth, G., Jiang, D., Fekete, M., Szabó, I., Göbölös, B., Urbányi, B., Szoboszlai, S., & Kaszab, E. (2022). Glyphosate and glyphosate-based herbicides (GBHs) induce phenotypic imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific Reports*, 12, 18258. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23117-9>
- Hamoudi-Belarbi, L., Hamoudi, S., Belkacemi, K., Nouri, L., Bendifallah, L., & Khodja, M. (2018). Bioremediation of polluted soil sites with crude oil hydrocarbons using carrot peel waste. *Environments - MDPI*, 5(11), 124.  
<https://doi.org/10.3390/environments5110124>
- Haque, S., Srivastava, N., Pal, D. B., Alkhanani, M. F., Almalki, A. H., Areeshi, M. Y., Naidu, R., & Gupta, V. K. (2022). Functional microbiome strategies for the bioremediation of petroleum-hydrocarbon and heavy metal contaminated soils: A review. *Science of the Total Environment*, 833, 155222.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155222>

- Hassan, A., Hamid, F. S., Pariatamby, A., Suhaimi, N. S. M., Razali, N. M. binti M., Ling, K. N. H., & Mohan, P. (2023). Bioaugmentation-assisted bioremediation and biodegradation mechanisms for PCB in contaminated environments: A review on sustainable clean-up technologies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *11*(3), 110055. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110055>
- Hassan, A., Pariatamby, A., Ossai, I. C., Ahmed, A., Muda, M. A., Wen, T. Z., & Hamid, F. S. (2022). Bioaugmentation-assisted bioremediation and kinetics modelling of heavy metal-polluted landfill soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *19*, 6729–6754. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03626-2>
- Hassan, A., Periathamby, A., Ahmed, A., Innocent, O., & Hamid, F. S. (2020). Effective bioremediation of heavy metal-contaminated landfill soil through bioaugmentation using consortia of fungi. *Journal of Soils and Sediments*, *20*, 66–80. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02394-4>
- He, X., Wu, C., Tan, H., Deng, X., & Li, Y. (2023). Impact of Combined Exposure to Glyphosate and Diquat on Microbial Community Structure and Diversity in Lateritic Paddy Soil. *Sustainability*, *15*(11), 8497. <https://doi.org/10.3390/su15118497>
- Hernández-Adame, N. M., López-Miranda, J., Martínez-Prado, M. A., Cisneros-de la Cueva, S., Rojas-Contreras, J. A., & Medrano-Roldán, H. (2021). Increase in Total Petroleum Hydrocarbons Removal Rate in Contaminated Mining Soil Through Bioaugmentation with Autochthonous Fungi During the Slow Bioremediation Stage. *Water, Air, and Soil Pollution*, *232*, 95. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05051-0>
- Hernández-Alomia, F., Ballesteros, I., & Castillejo, P. (2022). Bioremediation potential of glyphosate-degrading microorganisms in eutrophicated Ecuadorian water bodies. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *29*(3), 1550–1558. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.013>
- Hussein, S. H., Qurbani, K., Ahmed, S. K., Tawfeeq, W., & Hassan, M. (2024). Bioremediation of heavy metals in contaminated environments using Comamonas species: A narrative review. *Bioresource Technology Reports*, *25*, 101711. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101711>

- Ibrahim, N. E., Sevakumaran, V., & Ariffin, F. (2023). Preliminary study on glyphosate-degrading bacteria isolated from agricultural soil. *Environmental Advances*, *12*, 100368. <https://doi.org/10.1016/j.envadv.2023.100368>
- Iturbe-Argüelles, R., Flores-Torres, C., Chávez-López, C., & Roldán-Martín, A. (2002). Saneamiento de suelos contaminados con hidrocarburos mediante biopilas. *Ingeniería Investigación y Tecnología*, *3*(1), 25–35. <https://doi.org/10.22201/fi.25940732e.2002.03n1.004>
- Jabbar, N. M., Alardhi, S. M., Mohammed, A. K., Salih, I. K., & Albayati, T. M. (2022). Challenges in the implementation of bioremediation processes in petroleum-contaminated soils: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, *18*, 100694. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100694>
- Karimi, H., Mahdavi, S., Asgari Lajayer, B., Moghiseh, E., Rajput, V. D., Minkina, T., & Astatkie, T. (2022). Insights on the bioremediation technologies for pesticide-contaminated soils. *Environmental Geochemistry and Health*, *44*, 1329–1354. <https://doi.org/10.1007/s10653-021-01081-z>
- Kisić, I., Hrenović, J., Zgorelec, Ž., Durn, G., Brkić, V., & Delač, D. (2022). Bioremediation of Agriculture Soil Contaminated by Organic Pollutants. *Energies*, *15*(4), 1561. <https://doi.org/10.3390/en15041561>
- Korkmaz, V., Yildirim, N., Erguven, G. O., Durmus, B., & Nuhoglu, Y. (2021). The bioremediation of glyphosate in soil media by some newly isolated bacteria: The COD, TOC removal efficiency and mortality assessment for *Daphnia magna*. *Environmental Technology & Innovation*, *22*, 101535. <https://doi.org/10.1016/J.ETI.2021.101535>
- Leyva-Morales, J. B., Cabrera, R., Bastidas-Bastidas, P. de J., Valenzuela-Quintanar, A. I., Pérez-Camarillo, J. P., González-Mendoza, V. M., Perea-Domínguez, X. P., Márquez-Pacheco, H., Amillano-Cisneros, J. M., Badilla-Medina, C. N., Ontiveros-García, L. A., & Cruz-Acevedo, E. (2023). Validation and Application of Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry Method for the Analysis of Glyphosate, Aminomethylphosphonic Acid (AMPA), and Glufosinate in Soil. *Agriculture*, *13*(6), 1131.
- Li, Q., Li, J., Jiang, L., Sun, Y., Luo, C., & Zhang, G. (2021). Diversity and structure of phenanthrene degrading bacterial communities associated with fungal bioremediation



- in petroleum contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123895. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123895>
- Li, X., Wu, S., Fan, H., Dong, Y., Wang, Y., Bai, Z., Jing, C., & Zhuang, X. (2023). Phylogenetic distance affects the artificial microbial consortia's effectiveness and colonization during the bioremediation of polluted soil with Cr(VI) and atrazine. *Journal of Hazardous Materials*, 454, 131460. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131460>
- LibreTexts. (2012). 8.1: *How Microbes Grow*. OpenStax. [https://bio.libretexts.org/Courses/Manchester\\_Community\\_College\\_\(MCC\)/Remix\\_of\\_Openstax:Microbiology\\_by\\_Parker\\_Schneegurt\\_et\\_al/08:\\_Microbial\\_Growth/8.01:\\_How\\_Microbes\\_Grow](https://bio.libretexts.org/Courses/Manchester_Community_College_(MCC)/Remix_of_Openstax:Microbiology_by_Parker_Schneegurt_et_al/08:_Microbial_Growth/8.01:_How_Microbes_Grow)
- Liu, P. F., Yang, Z. H., Chen, Y. L., Lo, K. H., & Kao, C. M. (2021a). Remediation of weathered diesel-oil contaminated soils using biopile systems: An amendment selection and pilot-scale study. *Science of the Total Environment*, 786, 147395. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147395>
- Liu, P. F., Yang, Z. H., Chen, Y. L., Lo, K. H., & Kao, C. M. (2021b). Remediation of weathered diesel-oil contaminated soils using biopile systems: An amendment selection and pilot-scale study. *Science of The Total Environment*, 786, 147395. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.147395>
- Malla, M. A., Dubey, A., Kumar, A., Yadav, S., & Kumari, S. (2023). Modeling and optimization of chlorpyrifos and glyphosate biodegradation using RSM and ANN: Elucidating their degradation pathways by GC-MS based metabolomics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 252, 114628. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114628>
- Mani, D., & Kumar, C. (2014). Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: An overview with special reference to phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11, 843–872. <https://doi.org/10.1007/s13762-013-0299-8>
- Manogaran, M., Shukor, M. Y., Yasid, N. A., Johari, W. L. W., & Ahmad, S. A. (2017). Isolation and characterisation of glyphosate-degrading bacteria isolated from local soils in Malaysia. *Rendiconti Lincei*, 28(3), 471–479. <https://doi.org/10.1007/S12210-017-0620-4/METRICS>

- Martinez Alvarez, L., Bolhuis, H., Mau, G. K., Kok-Gan, C., Sing, C. C., Mac Cormack, W., & Ruberto, L. (2022). Identification of key bacterial players during successful full-scale soil field bioremediation in Antarctica. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *168*, 105354. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2021.105354>
- Martins, G. L., de Souza, A. J., Osti, J. F., Gontijo, J. B., Cherubin, M. R., Viana, D. G., Rodrigues, M. M., Tornisielo, V. L., & Regitano, J. B. (2023). The role of land use, management, and microbial diversity depletion on glyphosate biodegradation in tropical soils. *Environmental Research*, *231*(Part 1), 116178. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116178>
- Masotti, F., Garavaglia, B., Gottig, N., & Ottado, J. (2023). Bioremediation of the herbicide glyphosate in polluted soils by plant-associated microbes. *Current Opinion in Microbiology*, *73*, 102290. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2023.102290>
- Matozzo, V., Fabrello, J., & Marin, M. G. (2020). The Effects of Glyphosate and Its Commercial Formulations to Marine Invertebrates: A Review. *Journal of Marine Science and Engineering*, *8*(6), 399. <https://doi.org/10.3390/JMSE8060399>
- Mendoza-Burquete, Y., de la Luz Pérez-Rea, M., Ledesma-García, J., Campos-Guillén, J., Ramos-López, M. A., Guzmán, C., & Rodríguez-Morales, J. A. (2023). Global Situation of Bioremediation of Leachate-Contaminated Soils by Treatment with Microorganisms: A Systematic Review. *Microorganisms*, *11*(4), 857. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040857>
- Merotto, A., Gazziero, D. L. P., Oliveira, M. C., Scursioni, J., Garcia, M. A., Figueroa, R., & Turra, G. M. (2022). Herbicide use history and perspective in South America. *Advances in Weed Science*, *40*(spe1), e020220050. <https://doi.org/10.51694/AdvWeedSci/2022;40:seventy-five010>
- Mohy-Ud-Din, W., Akhtar, M. J., Bashir, S., Asghar, H. N., Nawaz, M. F., & Chen, F. (2023). Isolation of Glyphosate-Resistant Bacterial Strains to Improve the Growth of Maize and Degrade Glyphosate under Axenic Condition. *Agriculture*, *13*(4), 886. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE13040886/S1>
- Mordor Intelligence. (2024a). *Glyphosate Market - Size, Research & Forecast (2024-2029)*. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/glyphosate-herbicide-market>

- Mordor Intelligence. (2024b). *Herbicide market size & share analysis - Growth trends & forecasts up to 2029*. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/global-herbicides-market-industry>
- Mordor Intelligence. (2024c). *South America Herbicide Market Size & Share Analysis - Industry Research Report - Growth Trends*. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/south-america-herbicide-market>
- Morillo, E., Madrid, F., Lara-Moreno, A., & Villaverde, J. (2020). Soil bioremediation by cyclodextrins. A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 591, 119943. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119943>
- Muter, O. (2023). Current Trends in Bioaugmentation Tools for Bioremediation: A Critical Review of Advances and Knowledge Gaps. *Microorganisms*, 11(3), 710. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030710>
- Narayanan, M., Ali, S. S., & El-Sheekh, M. (2023). A comprehensive review on the potential of microbial enzymes in multipollutant bioremediation: Mechanisms, challenges, and future prospects. *Journal of Environmental Management*, 334, 117532. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117532>
- Nguyen, N. T., Vo, V. T., Nguyen, T. H. P., & Kiefer, R. (2022). Isolation and optimization of a glyphosate-degrading *Rhodococcus soli* G41 for bioremediation. *Archives of Microbiology*, 204(252). <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02875-0>
- Ogunbiyi, O. D., Akamo, D. O., Oluwasanmi, E. E., Adebajo, J., Isafiade, B. A., Ogunbiyi, T. J., Alli, Y. A., Ayodele, D. T., & Oladoye, P. O. (2023). Glyphosate-based herbicide: Impacts, detection, and removal strategies in environmental samples. *Groundwater for Sustainable Development*, 22, 100961. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2023.100961>
- Pavel, L. V., & Gavrilescu, M. (2008). Overview of ex situ decontamination techniques for soil cleanup. *Environmental Engineering and Management Journal*, 7(6), 815–834. <https://doi.org/10.30638/eej.2008.109>
- Pileggi, M., Pileggi, S. A. V., & Sadowsky, M. J. (2020). Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities. *Heliyon*, 6(12), e05767. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05767>
- Poi, G., Aburto-Medina, A., Mok, P. C., Ball, A. S., & Shahsavari, E. (2017). Large scale bioaugmentation of soil contaminated with petroleum hydrocarbons using a mixed

- microbial consortium. *Ecological Engineering*, 102, 64–71.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.01.048>
- Praveen, R., & Nagalakshmi, R. (2022). Review on bioremediation and phytoremediation techniques of heavy metals in contaminated soil from dump site. *Materials Today: Proceedings*, 68(Part 5), 1562–1567. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2022.07.190>
- Radhakrishnan, A., Balaganesh, P., Vasudevan, M., Natarajan, N., Chauhan, A., Arora, J., Ranjan, A., Rajput, V. D., Sushkova, S., Minkina, T., Basniwal, R. K., Kapardar, R., & Srivastav, R. (2023). Bioremediation of Hydrocarbon Pollutants: Recent Promising Sustainable Approaches, Scope, and Challenges. *Sustainability*, 15(7), 5847. <https://doi.org/10.3390/su15075847>
- Raffa, C. M., & Chiampo, F. (2021). Bioremediation of Agricultural Soils Polluted with Pesticides: A Review. *Bioengineering*, 8(7), 92. <https://doi.org/10.3390/BIOENGINEERING8070092>
- Raimondo, E. E., Saez, J. M., Aparicio, J. D., Fuentes, M. S., & Benimeli, C. S. (2020). Bioremediation of lindane-contaminated soils by combining of bioaugmentation and biostimulation: Effective scaling-up from microcosms to mesocosms. *Journal of Environmental Management*, 276, 111309. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111309>
- Raju, M. N., & Scalvenzi, L. (2017). Petroleum Degradation: Promising Biotechnological Tools for Bioremediation. In *Recent Insights in Petroleum Science and Engineering*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.70109>
- Ramadass, K., Smith, E., Palanisami, T., Mathieson, G., Srivastava, P., Megharaj, M., & Naidu, R. (2015). Evaluation of constraints in bioremediation of weathered hydrocarbon-contaminated arid soils through microcosm biopile study. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(11), 3597–3612. <https://doi.org/10.1007/s13762-015-0793-2>
- Ramírez, M. E., Vélez, Y. H., Rendón, L., & Alzate, E. (2018). Potential of microalgae in the bioremediation of water with chloride content. *Brazilian Journal of Biology*, 78(3), 472–476. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.169372>
- Redfern, L. K., Gardner, C. M., Hodzic, E., Ferguson, P. L., Hsu-Kim, H., & Gunsch, C. K. (2019). A new framework for approaching precision bioremediation of PAH

- contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 378, 120859. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.120859>
- Rendón-Castrillón, L., Ramírez-Carmona, M., Ocampo-López, C., González-López, F., Cuartas-Uribe, B., & Mendoza-Roca, J. A. (2023a). Treatment of water from the textile industry contaminated with indigo dye: A hybrid approach combining bioremediation and nanofiltration for sustainable reuse. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 8, 100498. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2023.100498>
- Rendón-Castrillón, L., Ramírez-Carmona, M., Ocampo-López, C., González-López, F., Cuartas-Uribe, B., & Mendoza-Roca, J. A. (2023b). Treatment of water from the textile industry contaminated with indigo dye: A hybrid approach combining bioremediation and nanofiltration for sustainable reuse. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 8, 100498. <https://doi.org/10.1016/J.CSCEE.2023.100498>
- Rendón-Castrillón, L., Ramírez-Carmona, M., Ocampo-López, C., González-López, F., Cuartas-Uribe, B., & Mendoza-Roca, J. A. (2024). Efficient bioremediation of indigo-dye contaminated textile wastewater using native microorganisms and combined bioaugmentation-biostimulation techniques. *Chemosphere*, 353, 141538. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2024.141538>
- Rigoletto, M., Calza, P., Gaggero, E., Malandrino, M., & Fabbri, D. (2020). Bioremediation methods for the recovery of lead-contaminated soils: A review. *Applied Sciences*, 10(10), 3528. <https://doi.org/10.3390/app10103528>
- Rodríguez, M. P., Melo, C., Jiménez, E., & Dussán, J. (2019). Glyphosate Bioremediation through the Sarcosine Oxidase Pathway Mediated by *Lysinibacillus sphaericus* in Soils Cultivated with Potatoes. *Agriculture 2019*, Vol. 9, Page 217, 9(10), 217. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE9100217>
- Sagarkar, S., Nousiainen, A., Shaligram, S., Björklöf, K., Lindström, K., Jørgensen, K. S., & Kapley, A. (2014). Soil mesocosm studies on atrazine bioremediation. *Journal of Environmental Management*, 139, 208–216. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.02.016>
- Salari, M., Rahmanian, V., Hashemi, S. A., Chiang, W. H., Lai, C. W., Mousavi, S. M., & Gholami, A. (2022). Bioremediation Treatment of Polyaromatic Hydrocarbons for

- Environmental Sustainability. *Water*, 14(23), 3980.  
<https://doi.org/10.3390/w14233980>
- Saunders, L., & Pezeshki, R. (2015). Glyphosate in Runoff Waters and in the Root-Zone: A Review. *Toxics*, 3(4), 462–480. <https://doi.org/10.3390/TOXICS3040462>
- Schommer, V. A., Vanin, A. P., Nazari, M. T., Ferrari, V., Dettmer, A., Colla, L. M., & Piccin, J. S. (2023). Biochar-immobilized *Bacillus* spp. for heavy metals bioremediation: A review on immobilization techniques, bioremediation mechanisms and effects on soil. *Science of the Total Environment*, 881, 163385. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163385>
- Sharma, B., Dangi, A. K., & Shukla, P. (2018). Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. *Journal of Environmental Management*, 210, 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.12.075>
- Singh, B. K., & Walker, A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiology Reviews*, 30(3), 428–471. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6976.2006.00018.X>
- Singh, S., Kumar, V., & Singh, J. (2019). Kinetic study of the biodegradation of glyphosate by indigenous soil bacterial isolates in presence of humic acid, Fe(III) and Cu(II) ions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(3), 103098. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2019.103098>
- Spinelli, V., Ceci, A., Dal Bosco, C., Dal Bosco, C., & Persiani, A. M. (2021). Glyphosate-eating fungi: Study on fungal saprotrophic strains' ability to tolerate and utilise glyphosate as a nutritional source and on the ability of *purpureocillium lilacinum* to degrade it. *Microorganisms*, 9(11), 2179.
- Stepanova, A. Y., Gladkov, E. A., Osipova, E. S., Gladkova, O. V., & Tereshonok, D. V. (2022). Bioremediation of Soil from Petroleum Contamination. *Processes*, 10(6), 1224. <https://doi.org/10.3390/pr10061224>
- Temporiti, M. E. E., Nicola, L., Nielsen, E., & Tosi, S. (2022). Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. *Microorganisms*, 10(6), 1180. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061180>

- Torretta, V., Katsoyiannis, I. A., Viotti, P., & Rada, E. C. (2018). Critical review of the effects of glyphosate exposure to the environment and humans through the food supply chain. *Sustainability*, *10*(4), 950. <https://doi.org/10.3390/su10040950>
- Travaglia, C., Masciarelli, O., Fortuna, J., Marchetti, G., Cardozo, P., Lucero, M., Zorza, E., Luna, V., & Reinoso, H. (2015). Towards sustainable maize production: Glyphosate detoxification by *Azospirillum* sp. and *Pseudomonas* sp. *Crop Protection*, *77*, 102–109. <https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2015.07.003>
- Triozi, M., Binetti, M. S., Campanale, C., Uricchio, V. F., & Massarelli, C. (2023). An Integrated Approach to Assess Smart Passive Bioventing as a Sustainable Strategy for the Remediation of a Polluted Site by Persistent Organic Pollutants. *Sustainability (Switzerland)*, *15*(4), 3764. <https://doi.org/10.3390/su15043764>
- Tufail, M. A., Iltaf, J., Zaheer, T., Tariq, L., Amir, M. B., Fatima, R., Asbat, A., Kabeer, T., Fahad, M., Naeem, H., Shoukat, U., Noor, H., Awais, M., Umar, W., & Ayyub, M. (2022). Recent advances in bioremediation of heavy metals and persistent organic pollutants: A review. *Science of the Total Environment*, *850*, 157961. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157961>
- van Bruggen, A. H. C., Finckh, M. R., He, M., Ritsema, C. J., Harkes, P., Knuth, D., & Geissen, V. (2021). Indirect Effects of the Herbicide Glyphosate on Plant, Animal and Human Health Through its Effects on Microbial Communities. *Frontiers in Environmental Science*, *9*, 464. <https://doi.org/10.3389/FENVS.2021.763917/BIBTEX>
- Vázquez, M. B., Moreno, M. V., Amodeo, M. R., & Bianchinotti, M. V. (2021). Effects of glyphosate on soil fungal communities: A field study. *Revista Argentina de Microbiología*, *53*(4), 349–358. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.10.005>
- Verma, A. (2021). Bioremediation Techniques for Soil Pollution: An Introduction. In *Biodegradation Technology of Organic and Inorganic Pollutants*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99028>
- Verma, J. P., Jaiswal, D. K., & Sagar, R. (2014). Pesticide relevance and their microbial degradation: a-state-of-art. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, *13*(4), 429–466. <https://doi.org/10.1007/S11157-014-9341-7/FIGURES/6>
- Wang, Q., Guo, S., Ali, M., Song, X., Tang, Z., Zhang, Z., Zhang, M., & Luo, Y. (2022). Thermally enhanced bioremediation: A review of the fundamentals and applications in

- soil and groundwater remediation. *Journal of Hazardous Materials*, 433, 128749. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128749>
- Wu, M., Liu, Z., Gao, H., Gao, J., Xu, Y., & Ou, Y. (2022). Assessment of bioremediation potential of petroleum-contaminated soils from the shanbei oilfield of China revealed by qPCR and high throughput sequencing. *Chemosphere*, 308(Pat 3), 136446. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136446>
- Wu, X., Zhu, Y., Yang, M., Zhang, J., & Lin, D. (2023). Earthworms enhance the bioremediation of tris(2-butoxyethyl) phosphate-contaminated soil by releasing degrading microbes. *Journal of Hazardous Materials*, 452, 131303. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131303>
- Xiao, R., Kuang, B., Hu, Y., Wang, Y., Bai, J., Zhang, L., Wang, C., Wei, Z., Zhang, K., Jorquera, M. A., Campos, M., Acuña, J. J., & Pan, W. (2023). Ecological risk assessment of glyphosate and its possible effect on bacterial community in surface sediments of a typical shallow Lake, northern China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 249, 114445. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2022.114445>
- Xu, B., Sun, Q. J., Lan, J. C. W., Chen, W. M., Hsueh, C. C., & Chen, B. Y. (2019). Exploring the glyphosate-degrading characteristics of a newly isolated, highly adapted indigenous bacterial strain, *Providencia rettgeri* GDB 1. *Bioscience and Bioengineering*, 128(1), 80–87. <https://doi.org/10.1016/J.JBIOSEC.2019.01.012>
- Yaashikaa, P. R., & Kumar, P. S. (2022). Bioremediation of hazardous pollutants from agricultural soils: A sustainable approach for waste management towards urban sustainability. *Environmental Pollution*, 312, 120031. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120031>
- Yaman, C. (2020). Performance and kinetics of bioaugmentation, biostimulation, and natural attenuation processes for bioremediation of crude oil-contaminated soils. *Processes*, 8(8), 883. <https://doi.org/10.3390/PR8080883>
- Zhan, H. F. Y. F. X. C. S. (2018). Recent advances in glyphosate biodegradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(12), 5033–5043. <https://doi.org/10.1007/S00253-018-9035-0/FIGURES/3>
- Zhang, H., Yuan, X., Xiong, T., Wang, H., & Jiang, L. (2020). Bioremediation of co-contaminated soil with heavy metals and pesticides: Influence factors, mechanisms and



- evaluation methods. *Chemical Engineering Journal*, 398, 125657. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125657>
- Zhang, K., Wang, S., Guo, P., & Guo, S. (2021). Characteristics of organic carbon metabolism and bioremediation of petroleum-contaminated soil by a mesophilic aerobic biopile system. *Chemosphere*, 264(Part 2), 128521. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128521>
- Zhang, W., Li, J., Zhang, Y., Wu, X., Zhou, Z., Huang, Y., Zhao, Y., Mishra, S., Bhatt, P., & Chen, S. (2022). Characterization of a novel glyphosate-degrading bacterial species, *Chryseobacterium* sp. Y16C, and evaluation of its effects on microbial communities in glyphosate-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 432, 128689. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128689>
- Zhou, X., Zhang, S., Wang, R., An, Z., Sun, F., Shen, C., Lin, H., & Su, X. (2023). A novel strategy for enhancing bioremediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soil with resuscitation promoting factor and resuscitated strain. *Journal of Hazardous Materials*, 447, 130781. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130781>