

# Biorremediación de los Recursos Naturales

Lucrecia Brutti - Marcelo Beltrán - Inés García de Salamone



# **Biorremediación de los Recursos Naturales**

Editores: Lucrecia Brutti – Marcelo Beltrán – Inés García de Salamone



**Ministerio de Agroindustria  
Presidencia de la Nación**

HURLINGHAM, BUENOS AIRES

2018

Biorremediación de los recursos naturales

Editores: Lucrecia Brutti – Marcelo Beltrán – Inés García de Salamone

1a. edición

Ediciones INTA

Instituto de Suelos, Centro de Investigación de Recursos Naturales

Hurlingham, Buenos Aires

2018

Biorremediación de los recursos naturales / Lucrecia Brutti ... [et al.] ; compilado por Lucrecia Brutti ; Marcelo Beltrán ; García de Salomone, Inés. - 1a ed. - Buenos Aires : Ediciones INTA, 2018.  
Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online  
ISBN 978-987-521-911-3

1. Recursos Naturales. 2. Suelos. 3. Agua. I. Brutti, Lucrecia II. Brutti, Lucrecia, comp. III. Beltrán, Marcelo, comp. IV. García de Salomone, Inés, , comp.

CDD 333.7

© 2018, Ediciones INTA

Libro de edición argentina

Todos los derechos reservados. No se permite la reproducción total o parcial, la distribución o la transformación de este libro, en ninguna forma o medio. Ni el ejercicio de otras facultades reservadas sin el permiso previo y escrito del editor. Su infracción está penada por las leyes vigentes.

**AUTORIDADES DE INTA**

**Presidente:** Juan BALBÍN

**Vicepresidente:** Mariano Miguel BOSCH

**Director Nacional:** Héctor ESPINA

**Ministro de Agroindustria:** Luis Miguel Etchevehere

**Director del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales:** Pablo  
MERCURI

**Director del Instituto de Suelos:** Miguel TABOADA

## **AGRADECIMIENTOS**

Los compiladores agradecen a las instituciones por su amplia colaboración tanto a la FAUBA (Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires) como al INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) y a los autores de cada capítulo por la dedicación y confianza.

A María del Carmen Sánches de la Gerencia de Gestión de la Información – INTA

A Laura Lima de la Gerencia de Comunicación e Imagen Institucional - INTA

A Valeria Guerra, Comunicadora del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRN) – INTA

A Guillermo Schulz del Instituto de Suelos, por el diseño de la tapa y contratapa

A Susana Russo y Juan Carlos de La Fuente, por el diseño de gráficos y tablas

*“Todo lo que puedas imaginar es real”  
Pablo Picasso*

## Prólogo

El Primer Taller Internacional de Biorremediación 2013 (PRITIBIO) fue realizado entre la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (FAUBA), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCYT) y el Instituto de Suelos del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Castelar.

A partir de la realización de este taller surgió la idea de publicar parte de la información presentada agregándole distintos aportes de otros investigadores que no participaron de este.

Esta publicación une trabajos realizados en el país y en el extranjero, referidos a la biorremediación de los recursos naturales. Cada investigador que aquí participa tiene en su desarrollo profesional varias publicaciones del tema por haberlo trabajado durante años.

Es del sentir de estos autores el saberse útil a los principios de la sustentabilidad ambiental y de la producción, atendiendo a los requisitos propios de cada recurso permitiendo el uso de este sin perturbar el ambiente.

Los países agroexportadores y aquellos que explotan la generosa naturaleza que el planeta les ofrece en su lugar tienen la responsabilidad de manejar la situación con equilibrio energético y balance de recursos adecuado para el presente y el futuro de las generaciones venideras.

El manejo sustentable del recurso incluye las metodologías para no extinguirlo y para que el proceso atinente no contamine el sitio de la explotación y menos aún el entorno cercano.

Los conceptos aquí vertidos quedan bajo la responsabilidad de los autores.

## Índice

Introducción.....	9
Summary.....	11
<b>CAPÍTULO 1</b>	
El suelo como recurso natural. ¿En qué marco se inserta la biorremediación?.....	13
<b>CAPÍTULO 2</b>	
Actinobacterias: su potencial para remover y degradar plaguicidas.....	34
<b>CAPÍTULO 3</b>	
Biobeds – Una contribución sueca para la minimización de la contaminación por el uso de plaguicidas.....	58
<b>CAPÍTULO 4</b>	
Contaminación del aire y su efecto en plantas y suelo, descontaminación y restauración.....	73
<b>CAPÍTULO 5</b>	
Propuesta de remediación con revegetación en área alterada por la actividad petrolera: desfiladero bayo, rincón de los sauces.....	90
<b>CAPÍTULO 6</b>	
Ecología microbiana de la rizósfera de ryegrass utilizado para fitorremediar suelo contaminados con PAHs.....	102
<b>CAPÍTULO 7</b>	
Electrobiorremediación de hidrocarburos en suelos insaturados de la Patagonia argentina.....	125
<b>CAPÍTULO 8</b>	
La biorremediación aplicada a la rehabilitación de suelos contaminados con hidrocarburos.....	144
<b>CAPÍTULO 9</b>	
Biorremediación de suelos contaminados con petróleo.....	178
<b>CAPÍTULO 10</b>	
El papel de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en la fitorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.....	208
<b>CAPÍTULO 11</b>	
Remediación de suelos contaminados con biodiesel.....	240

<b>CAPÍTULO 12</b>	
Biorremediación de suelos afectado por residuos.....	268
<b>CAPÍTULO 13</b>	
Utilización de especies vegetales para la recuperación de rellenos sanitarios.....	296
<b>CAPÍTULO 14</b>	
Suelos contaminados con hidrocarburos: un caso de estudio.....	316
<b>CAPÍTULO 15</b>	
Residuos de cosecha con fines bioenergéticos: el rastreo de maíz.....	327
<b>CAPÍTULO 16</b>	
Biodegradación de residuos contaminantes provenientes de la actividad agropecuaria para la producción de biogás.....	343
<b>CAPÍTULO 17</b>	
Inmovilización in situ de metales en suelos contaminados mediante fitoestabilización.....	366
<b>CAPÍTULO 18</b>	
Impacto del cadmio sobre la acumulación y la producción de granos en cultivos de maní.....	397
<b>CAPÍTULO 19</b>	
Biorremediación de suelos contaminados con metales pesados.....	420
<b>CAPÍTULO 20</b>	
Rol de la simbiosis micorrízica arbuscular y de las enmiendas orgánicas en la tolerancia a elementos tóxicos: su aporte en la remediación de suelos contaminados.....	444
<b>CAPÍTULO 21</b>	
Ecología microbiana del proceso de compostaje de suelo contaminado con petróleo.....	471
<b>CAPÍTULO 22</b>	
Fitorremediación de suelos salinos.....	505
<b>CAPÍTULO 23</b>	
La digestión anaeróbica y la biorremediación de suelos.....	515
Conclusiones.....	539
Biografía de los autores.....	540

## CAPÍTULO 21

### **Ecología microbiana del proceso de compostaje de suelo contaminado con petróleo**

Luciana Paula Di Salvo<sup>1</sup>, Jhovana Silvia Escobar Ortega<sup>1</sup>, Inés Eugenia García de Salamone<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453, Buenos Aires 1417, Argentina

E-mail : [igarcia@agro.uba.ar](mailto:igarcia@agro.uba.ar)

#### **Introducción**

En la actualidad, la principal fuente de energía proviene de la quema de combustibles fósiles. Las actividades relacionadas con la exploración, la extracción y el transporte del petróleo y sus derivados generan eventos de contaminación de suelos (Margesin *et al.*, 2007). El petróleo, tal como existe en la naturaleza, es un conjunto heterogéneo de diferentes compuestos mayoritariamente carbonados, sustancias azufradas y nitrogenadas, por lo que su composición varía entre los diferentes yacimientos (Rosenberg y Ron, 1998). Los compuestos carbonados presentan diferente peso molecular y complejidad de sus enlaces; los de más alta complejidad, como resinas y asfaltenos, son considerados resistentes a la degradación (Leahy y Colwell, 1990), mientras que el resto de los compuestos, que presentan distinta capacidad de biodegradación, se los clasifica bajo el nombre de hidrocarburos totales del petróleo (HTP).

Un suelo contaminado con hidrocarburos presenta alteración de su estructura, retención hídrica y saturación de bases, lo que determina la modificación sus propiedades biológicas y fertilidad (Pérez Vargas *et al.*, 2002). El principal mecanismo de recuperación de suelo contaminados es la degradación biológica (Dean *et al.*, 2001). Esto es posible dado que en todos los ecosistemas existen microorganismos capaces de degradar sustancias altamente complejas (Ércoli *et al.*, 2000; Madigan *et al.*, 2006). Los microorganismos, en su mayoría heterótrofos, utilizan los hidrocarburos como fuente de carbono y energía produciendo dióxido de carbono, agua, biomasa microbiana y otros compuestos con diferente grado de oxidación (Davis, 1967). La tasa a la cual las sustancias más complejas son biodegradadas depende de la

capacidad de los microorganismos de adaptarse a la nueva condición ambiental, luego de ocurrido un evento de contaminación (Zucchi *et al.*, 2003). En algunos ambientes, y bajo determinadas condiciones, los tiempos necesarios para la biodegradación pueden ser excesivos, por lo cual se vuelve necesario promover la actividad microbiana, utilizando alguna técnica de biorremediación (Medaura *et al.*, 2007).

La remediación de suelos contaminados resulta una temática de estudio de gran importancia (Abbassi y Shquirat, 2008). Actualmente se prefieren los métodos de descontaminación biológica frente a los métodos convencionales debido a que estos últimos producen generalmente intermediarios tóxicos (Dua, 2002) y son menos efectivos y más costosos (Paul *et al.*, 2005). La biorremediación ha probado ser la más efectiva para solucionar los problemas asociados a los suelos contaminados (Bonaventura y Johnson, 1996; Crawford y Crawford, 2005). Entre las numerosas estrategias de biorremediación de suelos contaminados se encuentra la técnica de compostaje. Esta se basa en estimular la actividad de los microorganismos aerobios termófilos mediante la formación de pilas de material, también llamadas biopilas, resultado de la mezcla del suelo contaminado con residuos de plantas o animales, periódicamente humedecidas y aireadas (Barker y Bryson, 2002). Algunos autores encontraron resultados satisfactorios utilizando esta estrategia para la formación de complejos metales-materia orgánica (Kandeler *et al.*, 2000) y para la degradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos (Loick *et al.*, 2009).

La biorremediación de los contaminantes en el proceso de compostaje constituye un proceso complejo, llevado a cabo por el crecimiento de grupos microbianos que actúan en forma sucesiva y complementaria. La evaluación de diferentes variables microbiológicas indicadoras durante dicho proceso constituye la herramienta que permite evaluar cómo se produce la degradación del contaminante en el suelo y el proceso de humificación. Ciertas variables fisicoquímicas, que facilitan los procesos microbiológicos, también pueden ser evaluadas en relación con estos (Rutigliano *et al.*, 2004). El objetivo de este trabajo ha sido contribuir al conocimiento de la microbiología asociada al proceso de compostaje de suelos contaminados con petróleo mediante la evaluación de la eficiencia de diferentes tratamientos de compostaje para reducir la concentración de HTP y el estudio de la dinámica de las principales comunidades microbianas durante dicho proceso.

## Metodología

Se realizaron dos ensayos con diferentes objetivos en cada uno de ellos. Ambos fueron llevados a cabo en distintos yacimientos de extracción de petróleo diferentes, ubicados en Malargüe, provincia de Mendoza. La instalación de las biopilas correspondientes así como su mantenimiento y muestreo estuvieron a cargo de personal de los yacimientos. Para el armado de las biopilas se utilizó suelo contaminado durante las actividades de extracción en cada yacimiento, a los fines de evitar el transporte del suelo contaminado. Este suelo había sido almacenado en repositórios. Ambos ensayos se realizaron sobre plataformas de cemento con pendiente y canalización para que los posibles efluentes generados durante el proceso de compostaje no infiltren en el perfil de suelo.

El primero de los ensayos tuvo por objetivo la evaluación de la eficiencia de diferentes mezclas para el compostaje del suelo contaminado. Se realizó en el yacimiento Pampa Palauco. La primera mezcla, desde ahora tratamiento PP1, consistió en suelo contaminado con agregado de guano caprino en proporción 70:30. La segunda mezcla, desde ahora tratamiento PP2, consistió en suelo contaminado con agregado de guano caprino y aserrín en proporción 66:25:9, y con agregado de 60 kg de azufre. La tercera y última mezcla, desde ahora tratamiento PP3, fue el suelo contaminado sin agregados, a modo de control. Cada tratamiento contó con dos biopilas independientes. El volumen de material de cada biopila fue de 15 m<sup>3</sup>. La aireación de cada una de ellas se realizó mediante la inyección de aire en forma mecánica a través de una bomba central y de cañerías que estaban ubicadas debajo de cada una de las biopilas.

El segundo de los ensayos tuvo por objetivo el aumento de la escala de trabajo y el monitoreo de la eficiencia de biorremediación en esta. Se realizó en el yacimiento Los Cavaos. El aumento en la escala de trabajo tuvo por objetivo obtener resultados simulando las condiciones necesarias para que la industria pueda remediar la contaminación que genera en el yacimiento. Para este ensayo se utilizó una mezcla de suelo contaminado con agregado de guano caprino en proporción 90:10. Se realizó el monitoreo del proceso de compostaje bajo diferentes mecanismos de aireación y la evaluación de la dinámica de las comunidades microbianas bajo estas condiciones. Uno de los mecanismos de aireación utilizados fue el sistema estático de aireación utilizado en el primer ensayo. A la biopila aireada mediante este mecanismo se la denominará desde ahora biopila BA. El segundo mecanismo evaluado fue el volteo del

material con pala mecánica, desde ahora biopila BV. Otro mecanismo evaluado constituyó un tratamiento testigo sin remoción mecánica ni aireación forzada, desde ahora biopila BM. Finalmente, la biopila control de suelo contaminado estuvo compuesta por el suelo contaminado únicamente, sin adición de material para el compostaje, desde ahora biopila BS. El volumen de material de la biopila BS fue de 15 m<sup>3</sup>, mientras que el volumen de las biopilas BA, BV y BM fue de 200 m<sup>3</sup>. Debido a los tratamientos dados, a la cantidad de material, y de manera tal de monitorear el proceso de compostaje en toda la profundidad de la biopila, las muestras de los tratamientos BA, BV y BM fueron obtenidas de tres profundidades diferentes: superficial, media y profunda. En el caso de la biopila BS, como el volumen de material fue menor, se realizó un muestreo compuesto del total de la biopila.

En ambos los ensayos se realizaron muestreos programados durante el proceso de compostaje. En el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje se tomaron las muestras al día de inicio del proceso de compostaje y a los 15, 30, 93 y 159 días de iniciado (DDI) el proceso, fueron cinco muestreos en total. En el ensayo escala y monitoreo de eficiencia se tomaron las muestras al día de inicio del proceso de compostaje y a los 30, 50, 85, 106, 169 DDI el proceso, fueron seis muestreos en total. Cada una de las muestras de cada biopila constituyó una muestra compuesta del total de la biopila o de la profundidad a muestrear, según correspondiese. Las muestras fueron trasladadas refrigeradas al laboratorio y mantenidas en cámara fría a 4 °C hasta el día de comienzo de su procesamiento, no más allá de los 30 días de arribada la muestra al laboratorio. Cada una de las muestras compuestas recibidas se homogeneizó y se fraccionó en tres submuestras para realizar las determinaciones por triplicado. Además de las muestras también fue analizado el guano utilizado para el armado de las biopilas.

La determinación del contenido de HTP se realizó siguiendo la norma de la Environmental Protection Agency (EPA) 418,1 modificada para suelos. La humedad se determinó con el detector de humedad MP406 (ICT International Ltd., Armidale, Australia). El pH se determinó según protocolo 9045C de la EPA. Se determinó el contenido de ácidos húmicos, huminas y ácidos fúlvicos según describen Paul y Clark (1996). El nitrógeno total se determinó de acuerdo al método descrito por el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (SMEWW, 1999), modificado para suelos. Además, se determinó fósforo disponible de acuerdo con Bray y Kurtz mediante el método descrito por Jackson (1976), y concentraciones de carbono oxidable, nitrato (N-NO<sub>3</sub>) y amonio (N-NH<sub>4</sub>) según Alef y Nannipieri (1998).

Para realizar las determinaciones microbiológicas se realizaron diluciones decimales (Madigan *et al.*, 2006) a partir de cada una de las muestras. Con estas diluciones se

realizaron recuentos de bacterias totales, hongos y actinomicetes en placas de Petri con medios adecuados para cada uno ellos, según metodología de recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) descrita en Alef y Nannipieri (1998). Para el recuento de bacterias totales se utilizó medio Agar Triptona de Soja (TSA) marca Oxoid® (Hampshire, Reino Unido). Por su parte, para el recuento de hongos y actinomicetes se utilizó el medio Agar Extracto de Malta marca Oxoid® (Hampshire, Reino Unido), con agregado del colorante rosa de Bengala. Las diluciones utilizadas para el recuento de bacterias totales fueron calentadas a 80 °C durante 10 minutos para conservar viables únicamente los microorganismos esporulados. Luego de dejar enfriar a temperatura ambiente, las diluciones fueron sembradas en medio TSA para el recuento de *Bacillus* sp. A partir de las placas de bacterias totales y mediante el uso de un replicador de metálico estéril, se sembraron placas de Petri conteniendo medio *Pseudomonas* Agar F marca Merck® (Nueva Jersey, EUA) con agregado de glicerina (10 ml L<sup>-1</sup>). Finalmente, se realizaron recuentos de microorganismos degradadores de hidrocarburos mediante la siembra en medio mínimo con agregado de kerosene como única fuente de carbono (D'Auria, 2012). Las placas de todos los recuentos se incubaron a 28 °C durante cuatro días, período luego del cual se realizó el recuento de colonias (Alef y Nannipieri, 1998).

Las mismas diluciones decimales se utilizaron para el recuento de microorganismos nitrificadores, celulolíticos y coliformes, según la metodología del Número Más Probable (NMP) descrita en Alef y Nannipieri (1998). Para el recuento de microorganismos nitrificadores se utilizaron microplacas de 96 celdas con 200 µl del medio mineral para nitrificadores (Alef y Nannipieri, 1998) en cada celda, adaptando la metodología descrita por Rorig *et al.* (2004). Para el caso del recuento de microorganismos celulolíticos se utilizaron tubos de ensayo que contenían 9 ml de medio mineral para celulolíticos, con tiras de papel de filtro estériles como única fuente carbonada (Alef y Nannipieri, 1998). Para el caso del recuento de microorganismos coliformes se utilizaron tubos de ensayo que contenían 9 ml de caldo MacConkey marca Oxoid® (Hampshire, Reino Unido) con campanitas Durham (Alef y Nannipieri, 1998). Las microplacas se incubaron en estufa a 28 °C, durante quince días. Los tubos de recuentos de microorganismos coliformes y celulolíticos se incubaron en estufa a 28 °C durante siete y treinta días, respectivamente. Luego del período de incubación, para determinar el número característico que requiere la metodología del NMP (Lorch *et al.*, 1998), cada uno de los tubos o celdas se comparó con un blanco que contenía el mismo medio de cultivo, pero estéril. En el caso de los microorganismos nitrificadores, la determinación del contenido de nitritos y nitratos de las celdas sembradas y blanco se realizó mediante bandeletas indicadoras (Quantofix®,

Macherey-Nagel, Alemania). En el caso de los microorganismos celulolíticos, se utilizó una escala colorimétrica para describir la degradación del papel de filtro. Finalmente, para el caso de los microorganismos coliformes, se determinaron los tubos positivos mediante presencia de turbidez, viraje del colorante indicador de pH y presencia de gas en la campanita Durham. Todos los recuentos se expresaron como el logaritmo de las UFC o NMP, según corresponda por gramo de materia seca (MS).

La diversidad funcional potencial se determinó mediante los perfiles de utilización de fuentes carbonadas (CLPP, por *Community-Level Physiological Profiles*), en microplacas de 96 celdas según metodología descrita por Di Salvo y García de Salamone (2012). La incubación se realizó en estufa a 30 °C y se leyó la absorbancia en espectrofotómetro Multiskan EX<sup>®</sup> (Labsystems, Finlandia) en cuatro oportunidades, a las 24, 48, 72 y 96 horas. Los datos obtenidos en los recuentos fueron analizados mediante análisis de varianza (ANVA), y comparación de medias mediante test de Tukey (P<0,05). Aquellas variables que no cumplieron con los supuestos del ANVA, fueron analizadas teniendo en cuenta sus desvíos estándar. Los CLPP de cada muestra se obtuvieron mediante análisis discriminante a partir de los valores de absorbancia de cada una de las celdas. Para los análisis mencionados se utilizó el programa estadístico INFOSTAT/Profesional<sup>®</sup> (Di Rienzo *et al.*, 2011).

## **Resultados y discusión del ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje**

Durante el proceso de compostaje ocurrido en este ensayo se observó una disminución del contenido de humedad durante el inicio y una estabilización alrededor del 10 % hacia los últimos meses del proceso (Tabla 1). Además, las diferencias entre tratamientos observadas en las biopilas al inicio del proceso no se observaron al finalizar este. La temperatura, por su parte, presentó un comportamiento bastante similar al del contenido de humedad; las diferencias iniciales fueron aún más acentuadas entre las biopilas PP1 y PP2 con respecto a las biopilas PP3 (Tabla 1).

**Tabla 1.** Evolución del contenido de humedad y temperatura durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje.

DDI	Biopila	Humedad (%)	Temperatura (°C)
1	PP1	16,99±0,73	37,5±0,0
	PP2	19,97±0,19	37,5±0,0
	PP3	13,28±0,16	17,5±0,0

15	PP1	14,17±3,06	37,7±0,4
	PP2	15,33±0,00	37,2±0,3
	PP3	12,93±0,04	27,2±4,0
30	PP1	13,87±2,81	23,9±8,6
	PP2	14,25±1,06	25,0±7,1
	PP3	11,52±0,57	17,7±1,0
93	PP1	7,41±0,77	19,1±0,1
	PP2	8,75±1,01	15,8±1,1
	PP3	9,26±0,86	15,0±0,2
159	PP1	10,26±3,68	14,9±0,0
	PP2	8,59±1,73	13,8±1,2
	PP3	8,82±0,36	11,8±0,5

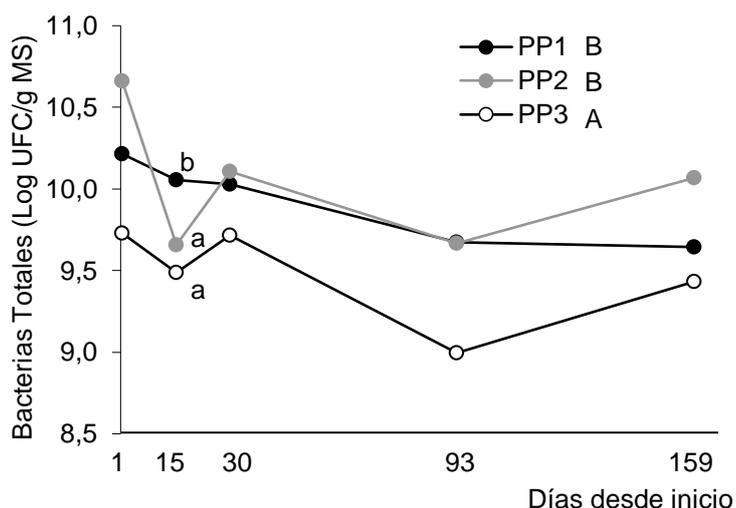
---

DDI: Días desde inicio del proceso de compostaje.

Valores medios ± desvío estándar.

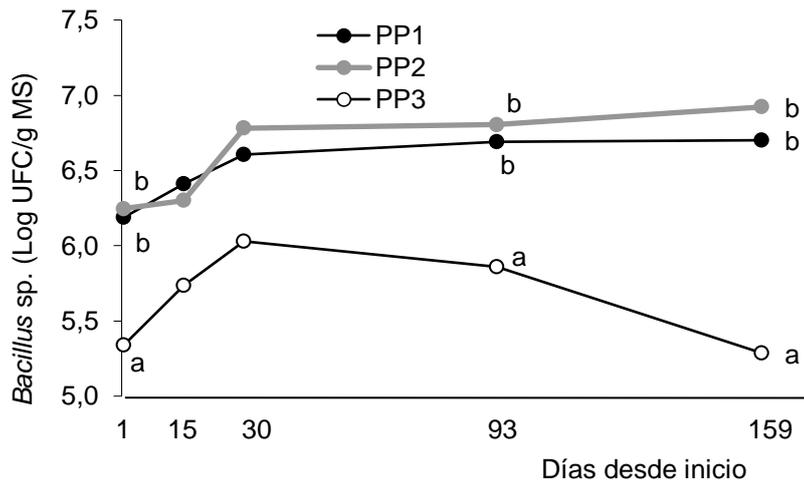
---

Durante todo el proceso, las biopilas PP1 y PP2, las cuales recibieron enmiendas para compostar, presentaron mayor número de bacterias totales que las biopilas PP3, a las que no se les había adicionado materiales para compostar, pero recibieron aireación (Figura 1). Se observaron diferencias significativas en el segundo muestreo (Figura 1), que estaría coincidiendo con la fase termofílica del compost (Tabla 1). En el compostaje esta fase se alcanza cuando las temperaturas superan los 35 °C, producto de la intensa actividad microbiana. El aumento de la temperatura favorece la proliferación de microorganismos termofílicos, como el género *Bacillus*, y posibilita la eliminación de microorganismos potencialmente patógenos, tales como los microorganismos coliformes. Si bien el aumento de la temperatura no fue mayor a 40 °C tal como resultaba esperable, las mayores temperaturas se registraron únicamente en las biopilas PP1 y PP2, y no en las biopilas PP3 (Tabla 1). Estos datos muestran el efecto de la adición de materiales para compostar sobre el recuento de las bacterias totales durante el proceso. Las diferencias en este recuento, sumadas a las diferencias observadas en el recuento de células viables del género *Bacillus* (Figura 2), coinciden con la ausencia de temperaturas acordes a la fase termofílica en las biopilas PP3.



**Figura 1.** Evolución del número de bacterias totales durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Letras distintas indican diferencias significativas, según test de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas indican diferencias entre tratamientos para cada muestreo y letras mayúsculas indican diferencias entre tratamientos considerando todos los muestreos del proceso de compostaje.

Tal como es sabido, la cantidad de bacterias presentes en una muestra de compost varía a lo largo del proceso, pero los diversos tipos presentes pueden variar con tendencias opuestas. Kaplan y Kitts (2004) observaron que el aumento en el recuento de bacterias en placas coincidía con el aumento en la degradación del petróleo y con la variación en la diversidad estructural de las bacterias presentes. Zucchi *et al.* (2003) también observaron que el aumento en el recuento de bacterias totales coincidía con el aumento en el recuento de degradadores y el aumento en la diversidad estructural de las bacterias. En este ensayo, en todas las biopilas se produjo una disminución del contenido de HTP (Figura 3) durante las etapas iniciales del proceso de compostaje. En todos los muestreos, así como también durante todo el proceso, las biopilas PP1 y PP2 presentaron significativamente menor cantidad de HTP que las biopilas PP3 (Figura 3). Al finalizar el proceso de compostaje los valores de degradación de HTP respecto a los valores al inicio del proceso fueron de 49 %, 55 % y 17 % menores para las biopilas PP1, PP2 y PP3, respectivamente.



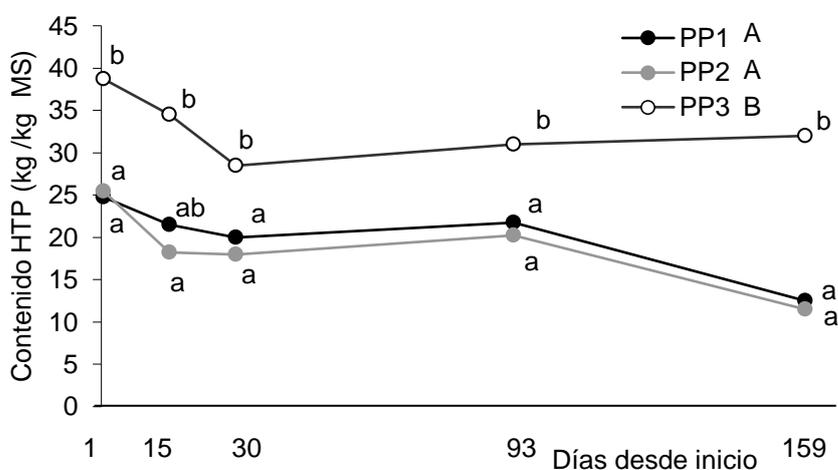
**Figura 2.** Evolución del número de *Bacillus* sp. durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada muestreo, según test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Las biopilas PP1 y PP2 además de presentar en general mayor cantidad de bacterias totales (Figura 1) y menor contenido de HTP (Figura 3) presentaron mayor cantidad de *Bacillus* sp., con evoluciones diferentes entre las distintas biopilas (Figura 2). En la etapa inicial del proceso, se produjo un aumento en el número de UFC de *Bacillus* sp. en las biopilas PP1 y PP2 que se mantuvo en los muestreos sucesivos. Por el contrario, en las biopilas PP3 también se produjo un incremento en el número durante la etapa inicial, pero que disminuyó en los muestreos sucesivos. Otro grupo particular de bacterias, el género *Pseudomonas*, presentó un marcado aumento durante la etapa inicial del proceso de compostaje y una disminución en las etapas finales de este, sin diferencias entre biopilas (Figura 4).

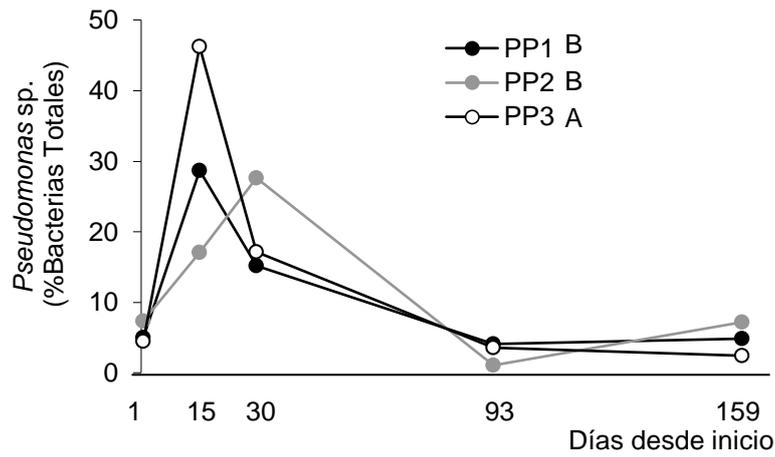
Similares resultados se observaron en el recuento de hongos (Figura 5) y actinomicetes (Figura 6). Las biopilas PP2 presentaron mayor número de UFC de hongos y actinomicetes que las biopilas PP3, a lo largo de casi todo el proceso. Además, las muestras correspondientes a las biopilas PP2 presentaron, también un alto número de microorganismos celulolíticos (Figura 7). Los hongos y actinomicetes son los microorganismos celulolíticos del suelo que inician el proceso de degradación microbiana de macromoléculas, facilitando la intervención de otros microorganismos. Es importante recordar que las biopilas PP2 fueron armadas mediante la mezcla de materiales, como guano caprino y aserrín, a diferencia de las biopilas PP3. Los datos obtenidos en este trabajo muestran la relevancia de los hongos y actinomicetes en la

actividad celulolítica. Analizando los coeficientes de correlación de Pearson de los recuentos de hongos y actinomicetes con el recuento de microorganismos celulolíticos se obtuvieron valores de 0,24 y 0,11, respectivamente, con valores de regresión positivos y muy bajos (6 y 1 %, respectivamente). Estos resultados pueden ser explicados, por un lado, debido a que las metodologías de recuento son diferentes en ambos casos ya que en el caso de hongos y actinomicetes fue UFC mientras que en el caso de celulolíticos se estimó el NMP. Por otro lado, no todos los hongos y actinomicetes evaluados en el recuento de UFC poseen necesariamente capacidad de celulolisis.

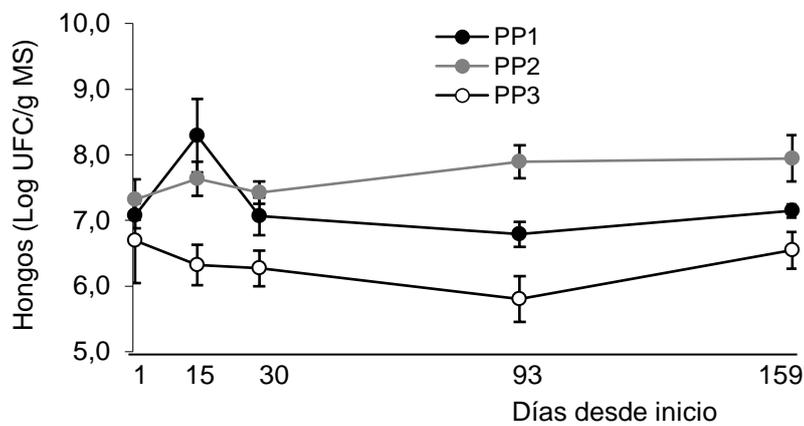
Se observó que las variables que presentaron mayor coeficiente de correlación de Pearson con el contenido de HTP fueron los recuentos de hongos (-0,67), de *Bacillus* (-0,89) y de microorganismos celulolíticos (-0,67). El aumento en el recuento de estos microorganismos explicó la reducción del contenido de HTP con un ajuste del 45 %, 79 % y 46 %, respectivamente. Esto, sumado a que se observaron diferencias significativas en los recuentos de bacterias totales y *Bacillus* sp., en el recuento de microorganismos degradadores, y los resultados obtenidos en la evaluación del contenido de HTP (Figura 3) indican que el proceso de compostaje incrementó la cantidad de estos microorganismos y favoreció la degradación de HTP.



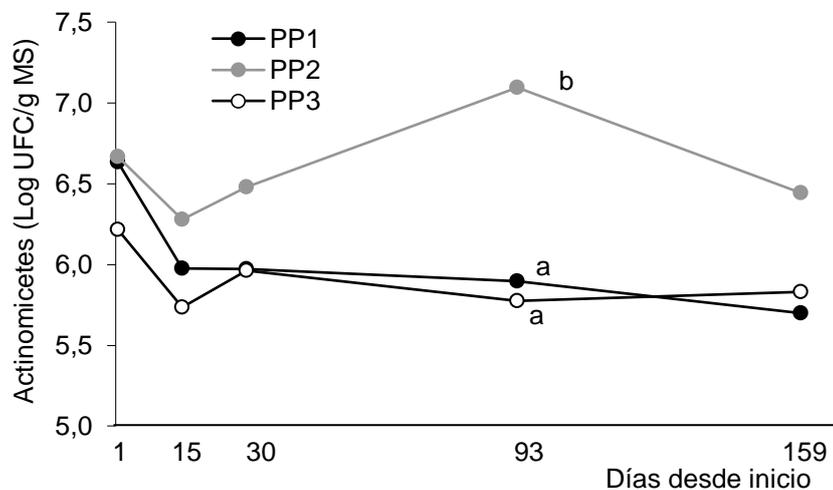
**Figura 3.** Evolución del contenido de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Letras distintas indican diferencias significativas, según test de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas indican diferencias entre tratamientos para cada muestreo y letras mayúsculas indican diferencias entre tratamientos considerando todos los muestreos del proceso de compostaje.



**Figura 4.** Evolución del porcentaje de *Pseudomonas* sp. durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje.

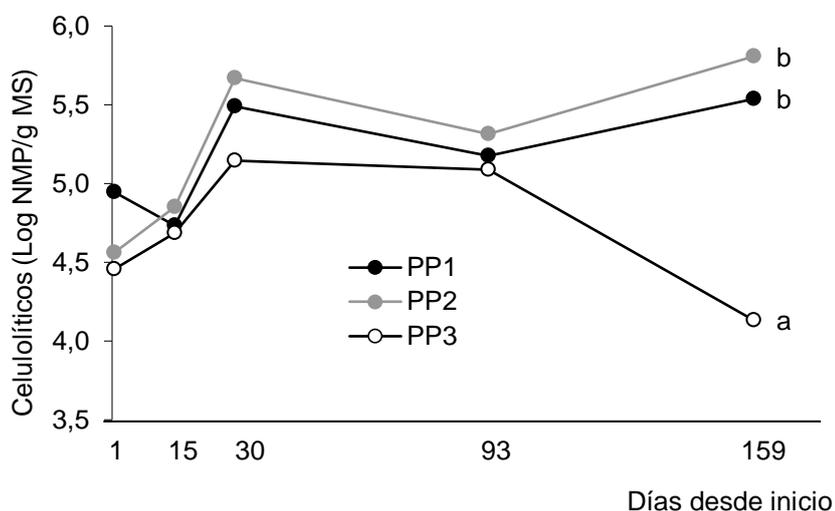


**Figura 5.** Evolución del número de hongos durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Las barras indican los desvíos estándar.



**Figura 6.** Evolución del número de actinomicetes durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada muestreo, según test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

En este ensayo, el contenido de C oxidable, N total, N-NO<sub>3</sub>, N-NH<sub>4</sub> y P disponible fue diferente entre las distintas biopilas durante todo el proceso de compostaje (Tabla 2). Las variables C oxidable, N-NO<sub>3</sub> y N-NH<sub>4</sub> mostraron diferencias entre las biopilas únicamente durante los primeros muestreos, mientras que las variables N total y P disponible presentaron diferencias entre las biopilas en varios momentos del proceso de compostaje (Tabla 2). Estas diferencias están asociadas al aporte de los materiales que fueron agregados a las biopilas como tratamiento de compostaje. Si bien la degradación de los HTP fue mayor en las biopilas PP1 y PP2, respecto a las biopilas PP3 (Figura 3), el aumento en la producción de sustancias húmicas, en particular huminas y ácidos húmicos, se produjo en forma similar en todas las biopilas (Tabla 2). La degradación de sustratos y de la materia orgánica del suelo tiene como resultado la producción de sustancias húmicas. Este es el principal resultado esperable de todo proceso de compostaje.



**Figura 7.** Evolución del número de microorganismos celulolíticos durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada muestreo, según test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 2.** Evolución del contenido de carbono oxidable (Cox), nitrógeno total (Nt), nitratos, amonio, fósforo disponible (Pd), huminas, ácidos húmicos y fúlvicos (como % de materia orgánica-MO) durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje.

DDI	Biopila	Cox (%)	Nt (%)	N-NO <sub>3</sub> (ppm)	N-NH <sub>4</sub> (ppm)	Pd (ppm)	Huminas (%MO)	Ác. húmicos (%MO)	Ác. fúlvicos (%MO)
1	PP1	3,8 b	0,3 b	93,1 b	23,7 b	48,1 b	2,2	0,7	0,8
	PP2	4,7 c	0,4 c	230,4 c	29,5 c	80,7 c	3,0	1,0	0,8
	PP3	2,3 a	0,2 a	53,1 a	9,9 a	4,5 a	1,5	0,2	0,5
15	PP1	2,9	0,3 b	65,6 a	14,9 b	49,2 b	2,0	0,4	0,6
	PP2	3,2	0,3 c	75,2 b	12,8 a	46,1 b	2,0	0,5	0,7
	PP3	2,2	0,2 a	61,5 a	13,4 ab	5,6 a	1,6	0,3	0,5
30	PP1	3,7	0,3 b	106,6 ab	20,1 b	49,8 b	2,5	0,7	0,4
	PP2	3,9	0,3 b	161,9 b	23,5 b	73,3 c	3,1	0,8	0,5
	PP3	2,4	0,2 a	60,1 a	11,3 a	4,6 a	1,6	0,2	0,5
93	PP1	4,1	0,3	84,8	15,2	36,3 b	3,2	0,8	0,5
	PP2	4,2	0,3	79,4	15,3	58,9 c	3,5	0,8	0,6
	PP3	3,1	0,3	75,8	12,2	4,4 a	2,6	0,4	0,5
159	PP1	2,6	0,3 a	67,8	11,2	34,4 b	3,7	0,8	0,6
	PP2	3,5	0,3 b	77,8	16,9	52,1 c	3,9	0,9	0,6
	PP3	2,5	0,2 a	66,7	9,5	4,2 a	3,1	0,6	0,5
VMP	PP1	3,4 B	0,29 B	83,6 AB	17,0 B	34,7 B	2,7	0,6 B	0,6 AB
	PP2	3,9 B	0,32 B	125,0 B	19,6 B	53,9 C	3,1	0,8 B	0,6 B
	PP3	2,5 A	0,22 A	63,4 A	11,2 A	4,7 A	2,1	0,3 A	0,5 A

DDI: Días desde inicio del proceso de compostaje.

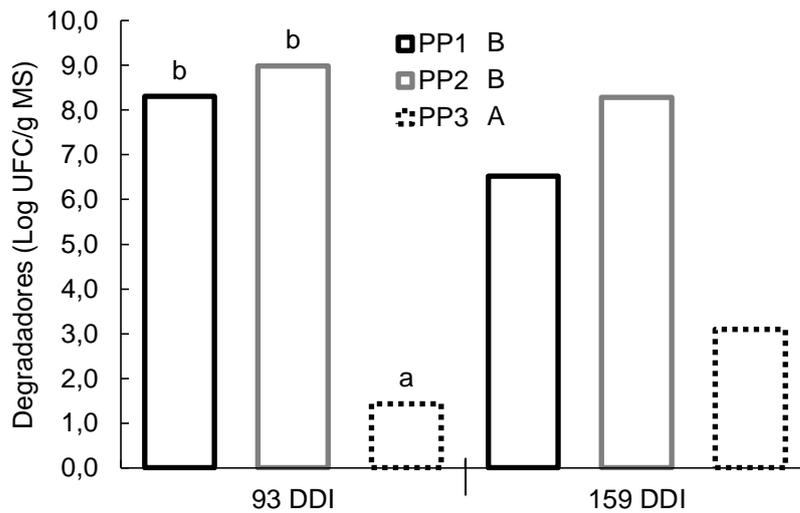
Para cada variable, letras minúsculas indican diferencias entre tratamientos para cada muestreo, según test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

En los valores medios del proceso (VMP), letras mayúsculas indican diferencias entre tratamientos considerando todos los muestreos del proceso de compostaje, según test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

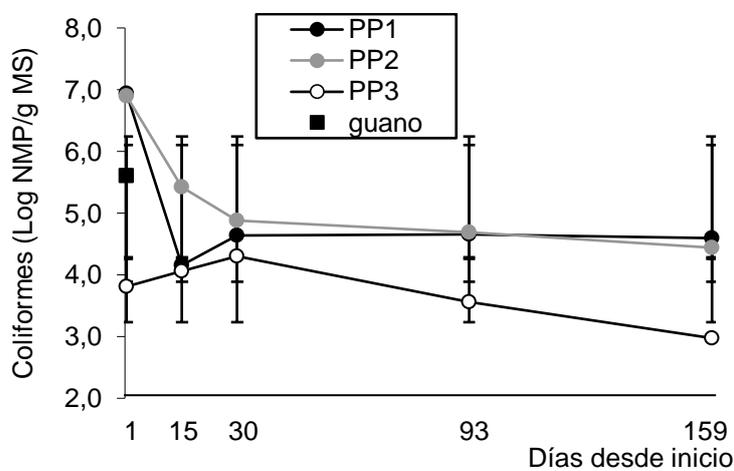
Como se mencionó anteriormente, la relación entre el número de microorganismos celulolíticos y el contenido de HTP fue negativa y significativa. Por su parte, se observó que las variables contenido de C oxidable y P disponible presentaron valores de coeficiente de correlación de Pearson iguales a -0,46 y -0,67, respectivamente. La mayor disponibilidad de estos nutrientes explicó la reducción del contenido de HTP con un ajuste del 21 % y 45 %, respectivamente. Estos resultados reflejan que la aplicación del compostaje, observado en las biopilas PP1 y PP2, activó la comunidad microbiana del suelo en forma significativa respecto a las biopilas PP3. Esto provocó la degradación de HTP y alteraciones en las variables microbiológicas. En este sentido, se observaron diferencias significativas en el número de microorganismos

degradadores de kerosene entre biopilas en el cuarto muestreo, que desaparecieron hacia el final del proceso de compostaje (Figura 8). Considerando los dos muestreos analizados, las biopilas PP1 y PP2 presentaron mayor número de microorganismos degradadores de kerosene. Sin embargo, teniendo en cuenta los resultados antes mencionados en relación con la producción de sustancias húmicas (Tabla 2), posiblemente haya sido necesario interrumpir el proceso antes del cuarto muestreo (93 DDI) con la finalidad de adicionar más material para compostar y reiniciar el proceso. Esto favorecería la formación de sustancias húmicas y la degradación de HTP en forma más marcada.

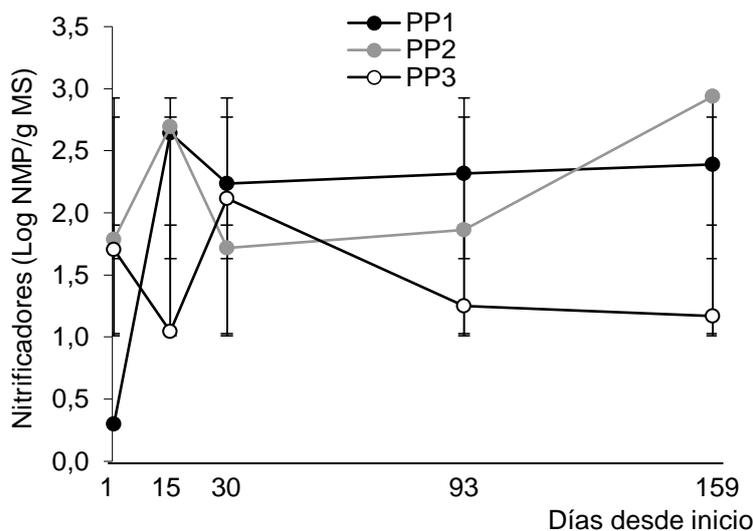
El número de microorganismos coliformes del guano utilizado para el armado de las biopilas fue de 5,61 log NMP/g de materia seca. La adición de este al suelo para compostar generó la proliferación de los microorganismos coliformes en las biopilas PP1 y PP2. La fase termofílica debería haber reducido el número de este grupo microbiano a los fines de eliminar los microorganismos potencialmente patógenos de las biopilas. Si bien se evidenció un descenso en el recuento, al finalizar el proceso de compostaje el número de estos microorganismos en las biopilas PP1 y PP2 continuó siendo mayor al observado en las biopilas PP3 (Figura 9), aunque no mucho más alto a los valores de recuento comúnmente observado en los suelos. El número de microorganismos nitrificadores (Figura 10) obtenidos en este primer ensayo fue similar a los determinados en compost analizado por otros autores (Kowalchuk *et al.*, 1999). Esto permite considerar que el mecanismo de aireación aplicado en este ensayo fue efectivo, y que la presencia de oxígeno no fue un factor limitante del proceso de nitrificación. Así, resulta evidente que la comunidad nitrificadora, con el agregado de sustratos descomponibles, puede jugar un rol fundamental en el proceso biológico de degradación de los hidrocarburos presentes. En este sentido, Kowalchuk *et al.* (1999) determinaron que el ciclo del nitrógeno durante el proceso de compostaje es regulado por los microorganismos nitrificadores presentes.



**Figura 8.** Recuento de microorganismos degradadores en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Letras distintas indican diferencias significativas, según test de Tukey ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas indican diferencias entre tratamientos para cada muestreo y letras mayúsculas indican diferencias entre tratamientos considerando todos los muestreos del proceso de compostaje. DDI: Días desde inicio del proceso de compostaje.



**Figura 9.** Evolución del número de microorganismos coliformes durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Las barras indican los desvíos estándar.



**Figura 10.** Evolución del número de microorganismos nitrificadores durante el proceso de compostaje en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje. Las barras indican los desvíos estándar.

## Resultados y discusión del ensayo de escala y monitoreo de eficiencia

En este segundo ensayo, la mayoría de las variables microbiológicas analizadas mostraron modificaciones a través del proceso de compostaje. Sin embargo, los resultados obtenidos para cada una de las variables fueron bastante similares entre los diferentes mecanismos de aireación. Esto lleva al análisis de las condiciones fisicoquímicas de humedad y temperatura (Tabla 3) que imperaron durante el proceso, las cuales se determinaron durante los primeros dos meses del proceso de compostaje. En este período se observó que la temperatura presentó un aumento de aproximadamente 10 °C y 7 °C para las biopilas BV y BM, respectivamente, mientras que el aumento para la biopila BS fue de aproximadamente 6 °C. La biopila BA, por el contrario, no presentó incrementos de temperatura hacia el final del período considerado (Tabla 3). El contenido de humedad, por su parte, se mantuvo estable en alrededor del 25 % para las biopilas BA, BV y BM. La biopila BS también presentó un contenido de humedad relativamente constante durante todo el proceso en alrededor del 15 % (Tabla 3). Durante los dos primeros meses se debería haber producido la fase termofílica del proceso de compostaje. Sin embargo, las temperaturas registradas en las pilas durante ese período estarían indicando que las biopilas no alcanzaron esa fase (Tabla 3). Esto podría estar asociado al menor aporte de guano respecto al ensayo anterior y por consiguiente menor aporte de materia orgánica,

microorganismos y nutrientes para activar el proceso de degradación. Los valores promedio obtenidos durante la determinación del contenido de HTP y de los recuentos microbiológicos del suelo contaminado, del guano utilizado en el armado de las biopilas y de la mezcla final, al inicio del ensayo antes de la instalación de las biopilas se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 3.** Evolución del contenido de humedad y temperatura durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia.

DDI	Biopila	Humedad (%)	Temperatura (°C)
7	BA	25,6±4,2	26,7±2,1
	BV	26,5±3,5	26,4±2,0
	BM	27,6±4,4	26,4±2,8
	BS	15,4±4,4	22,8±1,1
14	BA	26,5±2,3	15,8±4,9
	BV	27,1±3,1	19,7±3,4
	BM	25,9±3,2	15,3±3,6
	BS	15,3±4,3	27,8±2,4
21	BA	27,0±3,4	33,6±6,1
	BV	28,3±2,2	29,3±2,1
	BM	26,7±2,4	30,4±3,7
	BS	14,6±3,4	24,6±2,2
28	BA	23,2±4,2	30,5±5,7
	BV	23,1±2,3	30,3±2,5
	BM	24,7±1,8	31,5±3,3
	BS	14,2±2,8	25,7±2,5
51	BA	24,0±2,9	26,0±2,9
	BV	20,8±3,7	37,0±2,3
	BM	22,7±2,8	33,4±4,0
	BS	13,6±3,9	28,8±2,0

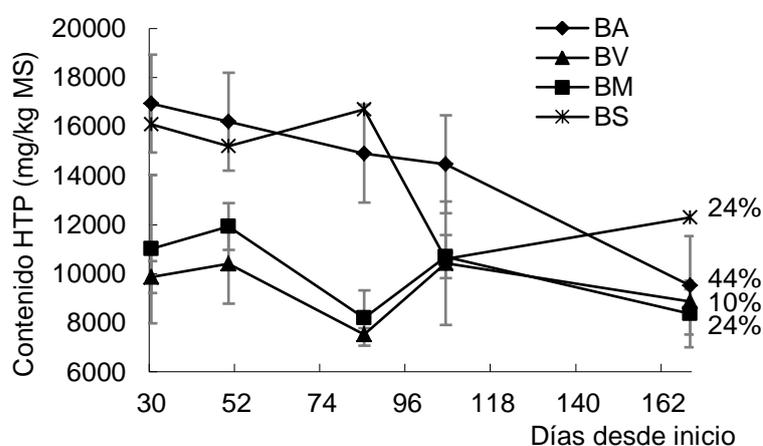
DDI: Días desde inicio del proceso de compostaje.

Valores medios ± desvío estándar entre las doce determinaciones por pila.

Al analizar la degradación de HTP se observó una disminución en el contenido de estos en todas las biopilas a lo largo del proceso de compostaje (Figura 11). Esta disminución fue variable en función de la profundidad de la biopila, siendo mayor siempre en la superficie de las biopilas. En el caso de la biopila BA, la degradación de HTP en la zona más superficial fue del 52 %, mientras que en las profundidades media y profunda fue del 49 % y 29 %, respectivamente. En el caso de la biopila BV, únicamente en la zona superficial se produjo una reducción del 22 % en el contenido de HTP, mientras que en el resto de las profundidades la degradación fue menor al 5

%. Finalmente, en el caso de la biopila BM, se produjo una disminución del contenido de HTP del 37 % y 25 %, en las zonas superficial y profunda, respectivamente. Para el caso de la atenuación natural, que fue evaluada en la biopila BS, la degradación de HTP fue del 24 % (Figura 11).

Los parámetros de contenido de carbono oxidable (Cox), nitrógeno total (Nt), nitratos, amonio, fósforo disponible (Pd), huminas, ácidos húmicos y fúlvicos mostraron una amplia variación en función de la profundidad evaluada. Los valores promedio se presentan en la Tabla 5. Únicamente se observó un aumento significativo en el contenido de P disponible y ácidos húmicos en todas las biopilas durante el proceso de compostaje (Tabla 5).



**Figura 11.** Evolución del contenido de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM. Los valores en porcentaje indican la degradación de HTP ocurrida respecto a la cantidad presente en el segundo muestreo.

**Tabla 4.** Determinaciones iniciales realizadas al momento de la instalación de las biopilas.

	Suelo contaminado	Guano	Mezcla
Contenido HTP <sup>a</sup>	13700	270	10200
Bacterias totales <sup>b</sup>	10,25	9,79	10,11
Hongos <sup>b</sup>	6,41	6,01	6,66
Actinomicetes <sup>b</sup>	6,04	4,31	5,59
Celulolíticos <sup>c</sup>	5,07	4,76	4,47
Coliformes <sup>c</sup>	4,06	4,97	4,87
Nitratadores <sup>c</sup>	4,06	6,28	4,85
Nitritadores <sup>c</sup>	4,06	6,28	4,85

<i>Bacillus</i> sp. <sup>b</sup>	4,82	nd	5,14
<i>Pseudomonas</i> sp. <sup>d</sup>	1,04	4,61	7,75

<sup>a</sup> mg/kg de MS    <sup>b</sup> Log UFC/ g MS    <sup>c</sup> Log NMP/g MS    <sup>d</sup> porcentaje respecto a bacterias totales  
nd: no determinado.

Los recuentos de microorganismos degradadores de kerosene en las biopilas BA, BV y BM fueron elevados, aunque similares a las biopilas BS. Estos se encontraron en el rango de 7,0 y 11,0 Log UFC/g de MS. Además, si bien existieron variaciones en el número de UFC de microorganismos degradadores, relacionadas con las profundidades analizadas, se observó una disminución en todas las biopilas a lo largo de todo el proceso de compostaje (Figura 12). La evolución de este grupo funcional indica cambios asociados con la reducción de los HTP (Figura 11). Los consorcios bacterianos responsables de la degradación de hidrocarburos encontrados en un suelo contaminado con petróleo están integrados principalmente por bacterias aeróbicas y hongos (Boonchan *et al.*, 2000). Entre los géneros de bacterias degradadoras de hidrocarburos se encuentran *Pseudomonas* sp. y *Bacillus* sp., entre otros (Bento *et al.*, 2005; Sheng y Gong, 2006; Abioye *et al.*, 2010; Grace Liu *et al.*, 2011). Las bacterias del género *Pseudomonas* se destacan por su gran adaptabilidad a situaciones extremas manteniendo funciones poco específicas. El género *Bacillus* está presente en las fases termofílicas del compost debido a su capacidad de esporular para resistir las altas temperaturas alcanzadas. En este ensayo, la evolución del recuento de ambos géneros durante el proceso de compostaje mostró que tienen dinámicas diferentes (Figuras 13 y 14, respectivamente), aunque el recuento de ambos géneros fue mayor en comparación

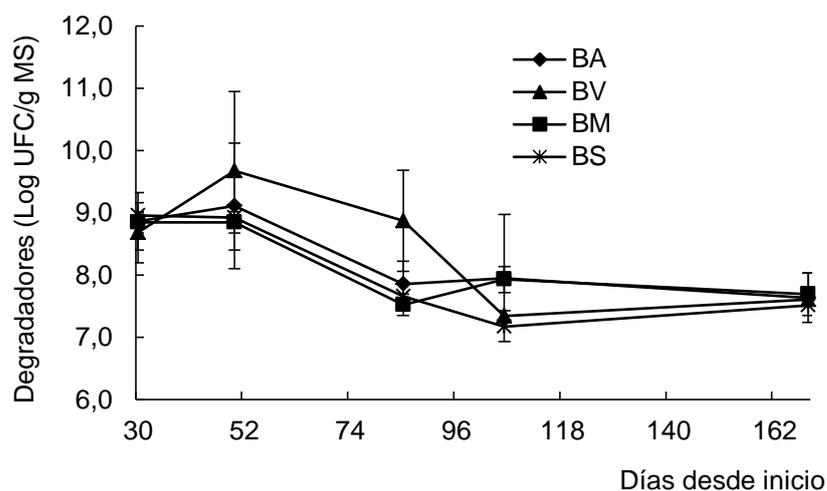
**Tabla 5.** Evolución del contenido de carbono oxidable (Cox), nitrógeno total (Nt), nitratos, amonio, fósforo disponible (Pd), huminas, ácidos húmicos y fúlvicos durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia.

DDI	Biopila	Cox (%)	Nt (%)	N-NO <sub>3</sub> (ppm)	N-NH <sub>4</sub> (ppm)	Pd (ppm)	Huminas (%)	Ác. húmicos (%)	Ác. fúlvicos (%)
30	BA	2,7±0,2	0,24	80,6±6,1	8,2±0,3	5,2±0,4	1,8±0,1	0,7±0,0	0,1±0,0
	BV	2,3±0,1	0,24	68,4±1,9	9,0±0,3	8,0±1,6	1,8±0,0	0,7±0,1	0,1±0,0
	BM	2,3±0,3	0,25	73,4±1,6	8,3±0,3	7,4±1,8	1,9±0,0	0,7±0,1	0,1±0,0
	BS	2,0	0,24	64,1	8,4	5,2	1,7	0,6	0,1
50	BA	2,4±0,1	0,25	68,3±2,6	9,9±0,5	9,9±1,2	1,7±0,1	0,8±0,0	0,2±0,0
	BV	2,2±0,0	0,23	64,2±1,5	10,1±1,1	12,4±2,0	1,7±0,0	0,7±0,0	0,1±0,1
	BM	2,1±0,2	0,23	67,4±4,5	10,3±1,1	12,5±1,9	1,7±0,0	0,7±0,0	0,2±0,0

	BS	1,9	0,22	66,6	9,1	7,8	1,7	0,9	0,1
85	BA	2,5±0,1	0,25	65,3±4,4	9,1±0,2	9,2±0,9	1,7±0,1	0,7±0,0	0,2±0,0
	BV	2,1±0,1	0,24	65,2±2,0	9,3±0,4	9,6±0,7	1,8±0,1	0,7±0,1	0,2±0,0
	BM	2,2±0,2	0,24	66,8±1,5	8,8±1,6	12,3±1,0	1,7±0,0	0,9±0,1	0,2±0,0
106	BS	2,0	0,24	66,2	9,8	8,9	1,7	0,7	0,2
	BA	2,2±0,4	0,24	67,7±1,3	9,7±1,3	11,3±2,2	1,7±0,0	0,9±0,1	0,1±0,0
	BV	2,3±0,4	0,24	64,3±1,8	11,0±1,3	10,9±1,9	1,7±0,1	0,8±0,1	0,1±0,0
	BM	2,4±0,2	0,24	68,7±3,4	9,7±1,2	10,9±1,4	1,7±0,1	0,9±0,2	0,1±0,0
169	BS	2,0	0,24	64,0	11,6	14,6	1,7	1,0	0,1
	BA	2,3±0,2	0,24	67,7±7,8	10,1±0,2	12,6±4,5	1,8±0,0	1,0±0,1	0,2±0,0
	BV	2,4±0,4	0,24	71,1±2,1	10,7±1,1	15,1±1,5	1,9±0,2	1,0±0,2	0,2±0,0
	BM	2,4±0,1	0,26	66,9±2,4	10,8±1,9	13,3±1,3	1,9±0,1	1,1±0,1	0,2±0,0
	BS	1,9	0,23	65,9	10,8	10,8	1,7	1,1	0,1

DDI: Días desde inicio del proceso de compostaje.

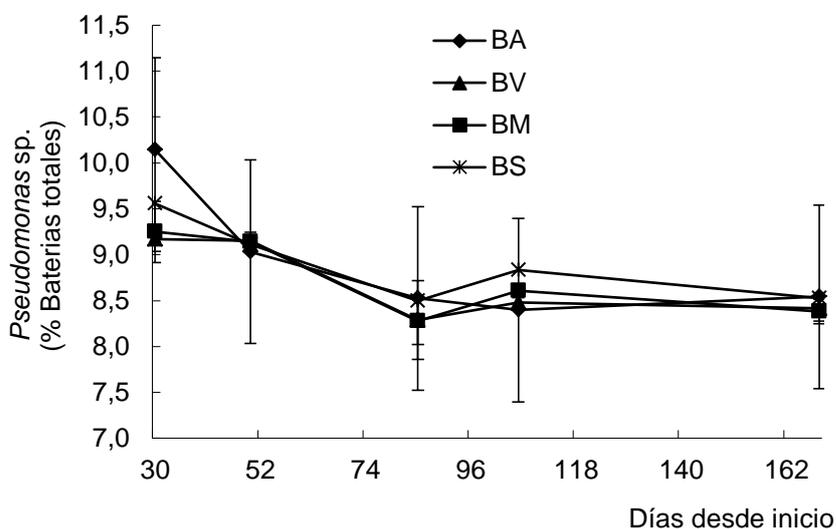
Valores promedio ± desvío estándar entre profundidades.



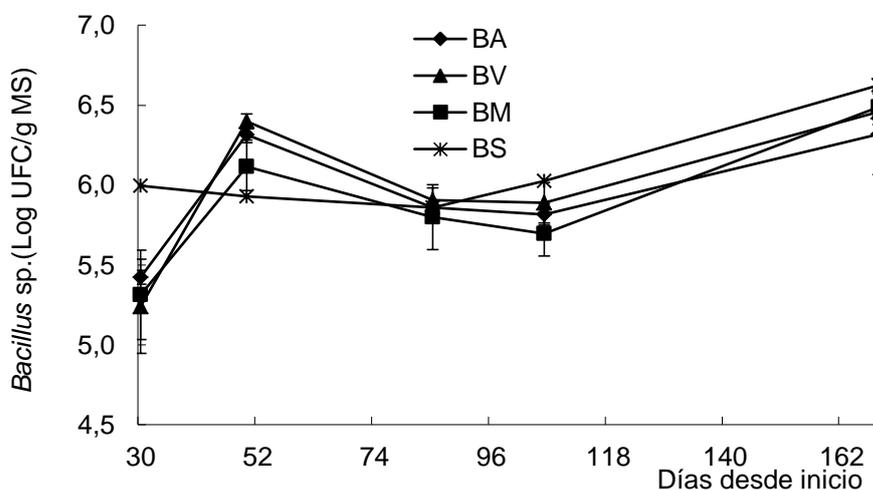
**Figura 12.** Evolución del número de microorganismos degradadores durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas.

al recuento inicial antes del proceso (Tabla 4), debido al proceso de compostaje. Se observó un descenso en el número de UFC de bacterias totales (Figura 15) y en el porcentaje de *Pseudomonas* sp. (Figura 13) a lo largo del proceso de compostaje en todas las biopilas. Por el contrario, se observó un aumento en el número de UFC del género *Bacillus* (Figura 14) y en el número de UFC de hongos (Figura 16) en las biopilas BA, BV y BM, mientras que las biopilas BS el número permaneció estable. Tampoco se observaron variaciones en el número de UFC de actinomicetes de las

diferentes biopilas durante el proceso de compostaje (Figura 17). En todos los recuentos se observaron variaciones debidas a las diferentes profundidades analizadas.



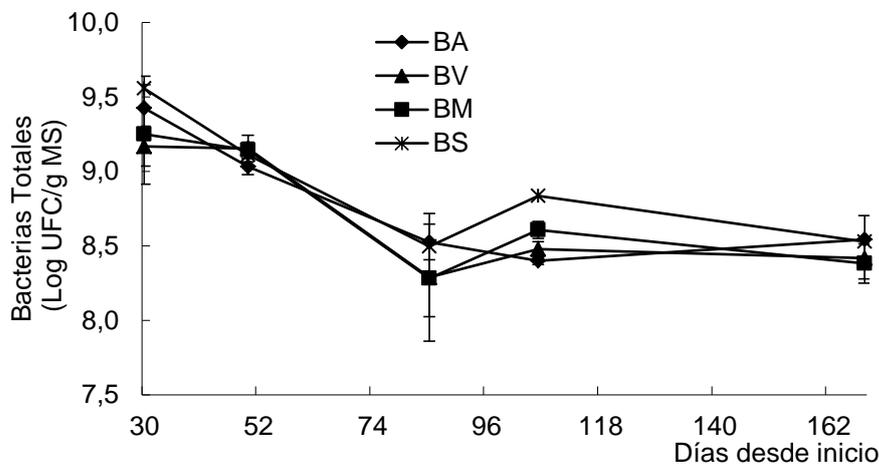
**Figura 13.** Evolución del porcentaje de *Pseudomonas sp.* durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.



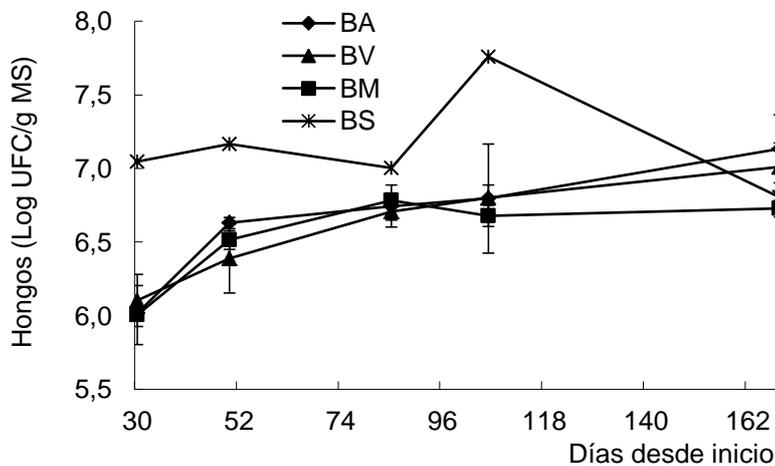
**Figura 14.** Evolución del número de *Bacillus sp.* durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.

Ante la ausencia de fase termofílica en las etapas tempranas del proceso, la degradación de HTP (Figura 11) podría haber estado limitada por el bajo desarrollo de

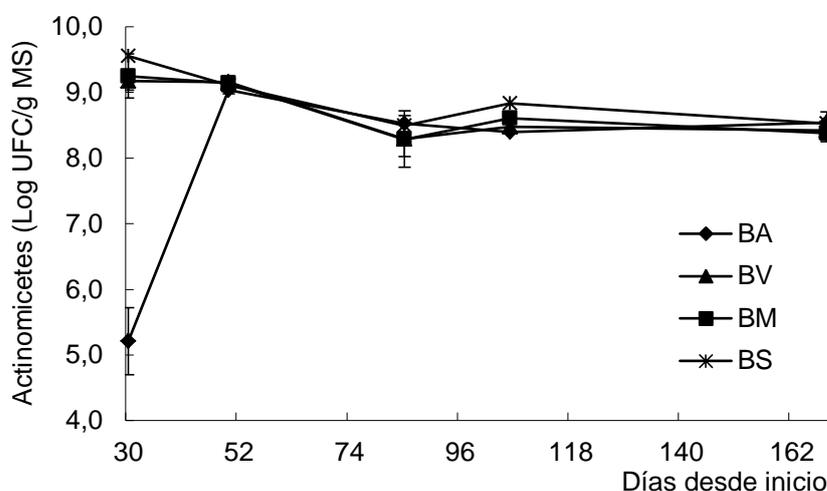
comunidades degradadoras termófilas, como las del género *Bacillus* (Figura 14). En este sentido, Ma *et al.* (2003) han observado que el agregado de compost a un suelo contaminado con antraceno aumentó la eficiencia de degradación de este e incrementó las cantidades de bacterias y actinomicetes termófilos en sucesión a las bacterias mesófilas. Estos autores observaron, además, que la diversidad microbiana se incrementó cuando la temperatura se elevó de 35 a 56 °C, coincidiendo con el aumento en el porcentaje de degradación (Ma *et al.*, 2003). Si bien la contaminación con un único contaminante es probablemente más simple que la contaminación directa con petróleo (Sugiura *et al.*, 1997), es relevante considerar que el éxito del proceso de compostaje debe alinearse con el objetivo de alcanzar temperaturas adecuadas.



**Figura 15.** Evolución del número de bacterias totales durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.



**Figura 16.** Evolución del número de hongos durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.

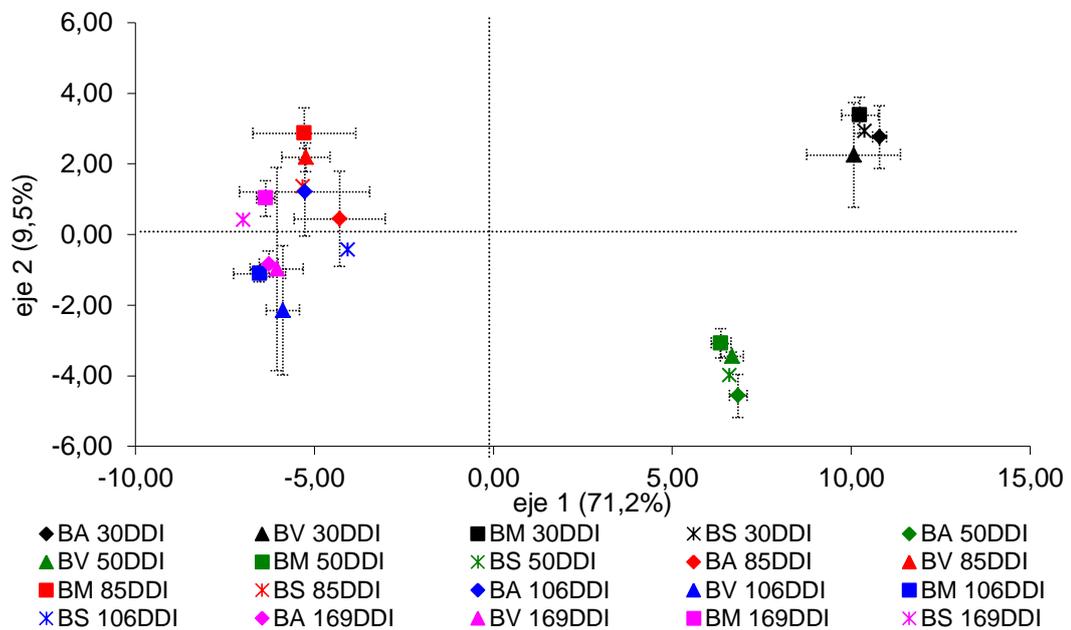


**Figura 17.** Evolución del número de actinomycetes durante el proceso de compostaje en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.

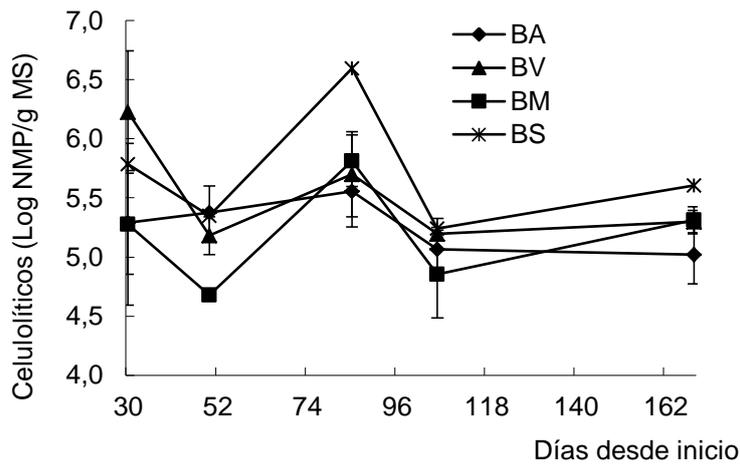
Variables tales como el contenido de HTP (Figura 11) y el recuento de microorganismos degradadores (Figura 12) indicaron que la ubicación en la matriz del compost, en volúmenes de material como los manejados durante este ensayo, influye en la dinámica de dichas variables, independientemente del mecanismo de aireación aplicado. Así, el proceso de compostaje y la degradación de los HTP presentaron distintas dinámicas de acuerdo a la profundidad dentro de la biopila. En oposición a otras variables microbiológicas, un análisis más detallado de la funcionalidad de las comunidades microbianas a través de los CLPP permitió observar que la diversidad funcional microbiana sufrió modificaciones durante todo del proceso de compostaje. No se observaron diferencias en la fisiología de las comunidades microbianas debidas a los distintos procesos de aireación o profundidades dentro de la pila. De esta manera, la fisiología de las comunidades microbianas correspondientes al segundo y el tercer muestreo fueron diferentes entre sí y con respecto a la fisiología de las comunidades microbianas correspondientes al cuarto, quinto y sexto muestreo (Figura 18).

Asociado a lo que se observó en el análisis de los CLPP, los recuentos de microorganismos celulolíticos y nitrificadores presentaron también variaciones temporales a lo largo del proceso de compostaje (Figuras 19 y 20, respectivamente). El proceso de compostaje generó un aumento en el recuento de microorganismos

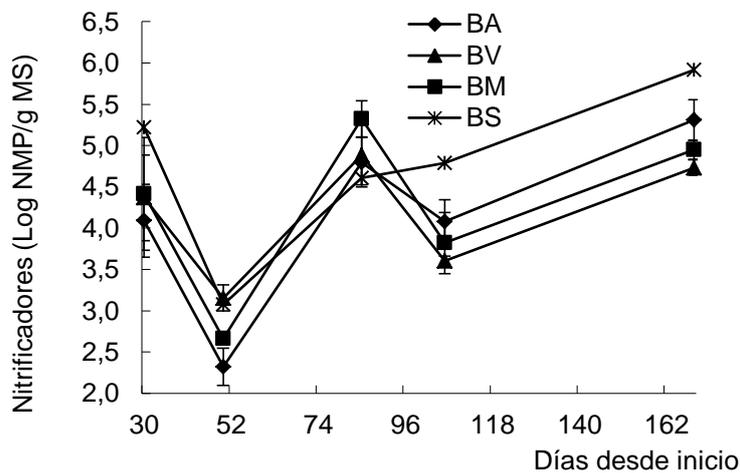
celulolíticos (Figura 19), en comparación con la cantidad obtenida en el recuento inicial antes del proceso (Tabla 4). Las variaciones temporales observadas en el contenido de  $N-NH_4$ , asociadas a las variaciones temporales en el número de microorganismos nitrificadores (Tabla 5) estarían indicando que el suelo está atravesando el proceso de inmovilización del amonio debido a la degradación del C presente por un aumento general de la actividad microbiana (Paul y Clark, 1996), observable en la alta cantidad de UFC de bacterias totales en los primeros muestreos (Figura 15) y en la cantidad de UFC de hongos que aumentan en los siguientes muestreos (Figura 16). El NMP de microorganismos



**Figura 18.** Análisis discriminante de los perfiles fisiológicos de utilización de fuentes carbonadas de las muestras provenientes de todas las biopilas del ensayo de escala y monitoreo de eficiencia. Diferentes símbolos indican las biopilas y diferentes colores indican los muestreos. Entre paréntesis se indican los porcentajes de varianza totales explicada por cada uno de los ejes. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.



**Figura 19.** Evolución del número de microorganismos celulolíticos durante el proceso de compostaje en el ensayo a escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.

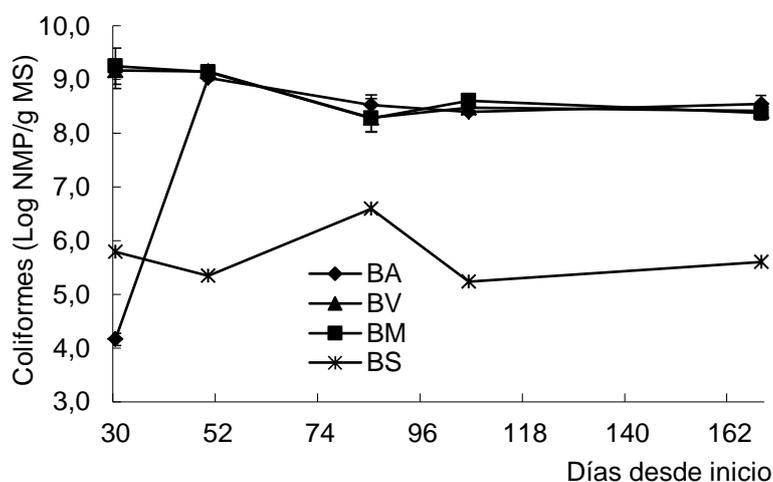


**Figura 20.** Evolución del número de microorganismos nitrificadores durante el proceso de compostaje en el ensayo a escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.

coliformes de las biopilas BA, BV y BM fue mayor al NMP observado en las biopilas BS y similares entre sí a lo largo de todo el proceso de compostaje (Figura 21). En este recuento no se observaron variaciones debidas a las diferentes profundidades analizadas.

Los métodos basados en el cultivo de los microorganismos son cuestionados por su acción selectiva, dado que la proporción de microorganismos que pueden ser cultivables a partir de una muestra cualquiera representa un rango variable que va del 1 al 14 % (Madigan *et al.*, 2006). A pesar de ello, las técnicas cultivables han sido

útiles, y lo son aún, para determinar impactos dados por la actividad antropogénica sobre la salud del suelo (Bakken, 1997; Ellis *et al.*, 2003), tal como se demostró también en este trabajo. Además, los resultados de ambos ensayos confirman que en el suelo existen microorganismos capaces de degradar sustancias complejas y recalcitrantes (Leahy y Colwell, 1990; Sugiura *et al.*, 1997; Ércoli *et al.*, 2000; Ruberto *et al.*, 2006). Las diferentes fases del proceso de compostaje generan cambios en la comunidad microbiana presente. Las únicas biopilas que presentaron fase termofílica fueron las biopilas del ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje que habían recibido mezcla de materiales (PP1 y PP2). En ellas se observaron diferencias en el recuento de bacterias totales, en el recuento del género *Bacillus*, importante para el proceso de biorremediación, y en el contenido de HTP. El recuento de microorganismos nitrificadores también mostró diferencias. En ambos ensayos la presencia de oxígeno no fue un factor limitante del proceso de nitrificación. También se observaron diferencias en los recuentos de microorganismos celulolíticos, de hongos y de actinomicetes, mostrando la relevancia de los hongos y actinomicetes en la actividad celulolítica y en la biorremediación.



**Figura 21.** Evolución del número de microorganismos coliformes durante el proceso de compostaje en el ensayo escala y monitoreo de eficiencia. Las barras indican los desvíos estándar debido a las distintas profundidades analizadas en las biopilas BA, BV y BM.

En relación con las técnicas cultivables, la metodología aplicada en este trabajo para la evaluación de las comunidades microbianas con capacidad de degradación de hidrocarburos constituye una técnica de relativamente fácil manipulación, que permite

evaluar la cantidad de microorganismos con capacidad de utilizar un derivado de petróleo. Es, por un lado, una herramienta de comparación entre tratamientos para analizar el estado de la comunidad degradadora (D'Auria, 2012) y, por otro lado, constituye el comienzo de cualquier programa de selección. La potencialidad de la comunidad microbiana con capacidad degradadora puede ser analizada con el objetivo de mejorar la eficiencia del proceso de compostaje mediante la inoculación, ya sea por una reducción de los plazos del proceso o por una disminución más acentuada de los valores de HTP. Si bien cualquier microorganismo degradador puede ser inoculado a un ecosistema determinado (Grace Liu *et al.*, 2011), la eficiencia de la inoculación con microorganismos nativos para la degradación ha sido comprobada (Bento *et al.*, 2005; Sheng y Gong, 2006). En este sentido, en nuestro laboratorio fueron obtenidos aislamientos de microorganismos con capacidad de crecer con kerosene como única fuente de carbono y algunos han sido probados como inoculantes para estimular la fitorremediación (D'Auria, 2012). La aplicación de aislamientos microbianos para mejorar la eficiencia de la fitorremediación como estrategia de remediación ha sido aplicada por varios autores con buenos resultados (Tesar *et al.*, 2002; Reardon *et al.*, 2002; Sheng y Gong 2006; Rivera-Cruz *et al.*, 2006; Abbassi y Shquirat, 2008; Dias *et al.*, 2012).

El éxito o fracaso de una estrategia de compostaje para la biorremediación depende de numerosos factores, las principales limitantes son la biodisponibilidad y la biodegradabilidad del contaminante (Amellal *et al.*, 2001; Semple *et al.*, 2001). Esto podría ser resuelto mediante el agregado de surfactantes que facilitan el contacto entre microorganismos y los contaminantes (Van Hamme, 2003). La utilización de biosurfactantes en biorremediación de suelos contaminados con petróleo facilitó la degradación de n-alcenos y PAHs favoreciendo la separación de varios derivados de petróleo de los complejos húmico-arcillosos siempre presentes en el suelo (Ron y Rosenberg 2002; García-Junco *et al.*, 2003; Mulligan, 2005). El proceso de compostaje disminuyó la afinidad de absorción de los PAHs fenantreno y pireno por la fracción de los ácidos húmicos e incrementó la heterogeneidad de los sitios de absorción en los ácidos húmicos (Plaza *et al.*, 2009). Los cambios producidos por esta fracción de las sustancias húmicas durante el proceso de compostaje podría contribuir a aumentar el acceso microbiano a los PAHs. Otros autores, han observado también que el mezclado de un suelo contaminado con compost maduro mejoraba la eficiencia del compostaje del suelo contaminado (Namkoong *et al.*, 2002; Ma *et al.*, 2003; Grace Liu *et al.*, 2011).

La aplicación de fitorremediación y la inoculación de bacterias con capacidad degradadora comprobada, discutido previamente, podría ser otra de las herramientas

para mejorar los contenidos de HTP alcanzados en estos ensayos. En futuras biopilas dentro del yacimiento, la utilización de compost maduro para el armado de estas, podría ser considerada como alternativa para mejorar los resultados obtenidos en este trabajo, con la necesidad de continuar monitoreando las variables fisicoquímicas y microbiológicas.

En ambos ensayos de este trabajo, se observó una reducción en el contenido de HTP asociada a los procesos de compostaje llevados a cabo. El nivel de HTP debe ser comparado con la normativa vigente a los fines de determinarse el grado de biorremediación alcanzado. En nuestro país, se encuentran determinados niveles guía para suelos. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que el resultado final del proceso de compostaje es compost y no suelo, y que este puede llegar a ser destinado a otros usos diferentes a los usos del suelo. Por ello, es necesario ser más exigente con los valores máximos de HTP que puede contener el compost, en caso que este quiera ser destinado para la producción hortícola, florícola y forestal intensiva, con los consecuentes riesgos de manipulación, liberación al ambiente y traslocación de contaminantes a órganos vegetales destinados a la alimentación. De todas formas, el objetivo de aplicar la técnica de compostaje en este trabajo fue recuperar el suelo contaminado para poder reutilizarlo en el sitio de extracción del petróleo y reducir su acumulación.

Respecto a la comparación con la normativa vigente, la legislación argentina en el anexo II del Decreto Reglamentario 831/93 de la Ley 24.051 sobre desechos peligrosos establece niveles guía de calidad de suelos para diferentes usos del suelo (SAyDS, 2013). Estos niveles están detallados por compuestos, encontrándose niveles guía para antraceno y pireno, entre otros, pero no se incluyen niveles guías para HTP. Los niveles guía para este tipo de compuestos están reglamentados por legislaciones provinciales únicamente en las provincias de Chubut (Ley N° 5439), Santa Cruz (Ley N° 2567) y La Pampa (Ley N° 1914). El límite establecido por la provincia de Chubut es 10000 mg/kg y el límite para las provincias de Santa Cruz y La Pampa es 20000 mg/kg de suelo seco, en todos los casos determinado por el método EPA 418,1. El valor más bajo de contenido de HTP obtenido en el ensayo de eficiencia de mezclas para compostaje (11500 mg/kg MS) se encuentra en medio de los niveles guía establecidos por las provincias mencionadas, mientras que el valor más bajo de contenido de HTP obtenidos en el ensayo de escala y monitoreo de eficiencia (6500 mg/kg MS) se encuentra por debajo del nivel guía más exigente.

## **Conclusiones**

- La adición de materiales a la mezcla final para compostar mejoró el proceso de

compostaje en general y la eficiencia de degradación de HTP.

- El compostaje redujo el nivel de contaminación con HTP por debajo de los niveles iniciales y por debajo de los niveles guías reglamentados por leyes provinciales para suelo.
- La evaluación del número de microorganismos degradadores contribuyó a la comprensión del proceso biológico de compostaje, presentando estrecha relación con la variable contenido de HTP. Asimismo, constituye el punto de partida para la obtención de aislamientos para su aplicación biotecnológica en biorremediación.
- La evaluación de las variables microbiológicas brindó información detallada del proceso de compostaje que las variables fisicoquímicas por sí solas no mostraron. Debido a ello, la dinámica del proceso de compostaje debe ser analizada con un enfoque biológico, mediante el seguimiento de las variables microbiológicas estudiadas, en conjunto con las variables físico-químicas consideradas.
- El aumento de la complejidad del proceso debido al aumento en la escala de trabajo similar a la de un yacimiento:
  - a) sugiere aumentar la eficiencia del proceso de compostaje mediante estrategias tales como la aplicación de suelo previamente compostado al suelo contaminado o la inoculación de este con microorganismos con capacidad degradadora;
  - b) requiere un mayor conocimiento de las variables microbiológicas relacionadas con la dinámica de la degradación de hidrocarburos y de los cambios en la comunidad microbiana que se producen a lo largo del proceso de compostaje de forma tal de aumentar la eficiencia del proceso.

## **Bibliografía**

- ABBASSI, B.E.; SHQUIRAT, W.D. 2008. Kinetics of indigenous isolated bacteria used for *ex-situ* bioremediation of petroleum contaminated soil. *Water Air and Soil Pollution*, 192:221-226.
- ABIOYE, P.O.; ABDUL AZIZ, A.; AGAMUTHU, P. 2010. Enhanced biodegradation of used engine oil in soil amended with organic wastes. *Water Air and Soil Pollution*, 209:173-179.
- ALEF, K.; NANPIERI, P. 1998. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, Academic Press, Londres, pp. 420-421.
- AMELLAL, N.; PORTAL, J.M.; VOGEL, T.; BERTHELIN, J. 2001. Distribution and location of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and PAH-degrading bacteria within polluted soil aggregates. *Biodegradation*, 12:49-57.

- BAKKEN, L.R. 1997. Culturable and nonculturable bacteria in soil. En: Elsas, J.D.; Trevors, J.T.; Wellington, E.M.H. (ed.). *Modern Soil Microbiology*, Marcel Dekker. Nueva York, Estados Unidos de América.
- BARKER, A.V.; BRYSON, G.M. 2002. Bioremediation of heavy metals and organic toxicants by composting. *The Scientific World Journal*, 2:407-420.
- BENTO, F.M.; CAMARGO, F.A.O.; OKEKE, B.C.; FRANKENBERGER, W.T. 2005. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*, 96:1049-1055.
- BONAVENTURA, C.; JOHNSON, F.M. 1996. Healthy environment for healthy people: Bioremediation now and tomorrow. *Environmental Health Perspective Supplements*, 105(1):5-21.
- BOONCHAN, S.; BRITZ, M.I.; STANLEY, G.A. 2000. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Applied and Environmental Microbiology* 66(3):1007-1019.
- CRAWFORD, R.L.; CRAWFORD, D.L. 2005. *Bioremediation: principles and applications*, Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido, pp. 416.
- D'AURIA, F. 2012. Estrategias de remediación de suelos contaminados con hidrocarburos: Efecto de la presencia de *Impatiens walleriana* y la inoculación con *Azospirillum brasilense* y microorganismos autóctonos. Trabajo de intensificación para optar por el título de Licenciada en Ciencias Ambientales, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
- DAVIS, J.B. 1967. *Petroleum Microbiology*. Elsevier. Ámsterdam, Países Bajos, pp. 604.
- DEAN, S.M.; JIN, Y.; CHA, D.K.; WILSON, S.V.; RADOSEVICH, M. 2001. Phenanthrene degradation in soils co-inoculated with phenanthrene-degrading and biosurfactant-producing bacteria. *Journal of Environmental Quality*, 30:1126-1133.
- DÍAS, R.L.; RUBERTO, L.; HERNÁNDEZ, E.; VÁZQUEZ, S.C.; LO BALBO A.; DEL PANNO, M.; MAC CORMACK, W. 2012. Bioremediation of an aged diesel oil-contaminated Antarctic soil: Evaluation of the "on site" biostimulation strategy using different nutrient source. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 75:96-103.
- DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZALEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. 2011. *InfoStat versión 2011*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible: <http://www.infostat.com.ar>. Visitado 10 de septiembre de 2016.
- DI SALVO, L.P.; GARCÍA DE SALAMONE, I.E. 2012. Evaluation of soil-microbial communities by their CLPP. Standardization of a laboratory technique to replace commercial available microplates. *Ecología Austral* 22(2):129-136.

DUA, M. 2002. Biotechnology and bioremediation: successes and limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59:143-152.

ELLIS, R.J.; MORGAN, P.; WEIGHTMAN, A.J.; FRY, J.C. 2003. Cultivation-dependent and -independent approaches for determining bacterial diversity in heavy metal-contaminated soils. *Applied and Environmental Microbiology* 69:3223-3230.

ÉRCOLI, E.; VIDELA, C.; CALLEJAS, C.; GALVEZ, J.; VIDELA, S.; CANTERO, J.; MEDAURA, C.; DI PAOLA, M. 2000. Biorremediación por técnica de acumulación aireada. IV Jornadas de preservación de aguas, aires, y suelo en la industria de petróleo y de gas, Salta, Argentina.

GARCÍA-JUNCO, M.; GÓMEZ-LAHOZ, C.; NIQUI-ARROYO, J.L.; ORTEGA-CALVO, J.J. 2003. Biosurfactant- and biodegradation-enhanced partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons from nonaqueous-phase liquids. *Environmental Science and Technology* 37:2988-2996.

GRACE LIU, P.W.; CHANG, T.C.; WHANG, L.M.; KAO, C.H.; PAN, P.T.; CHENG, S.S. 2011. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift. *International Biodeterioration and Biodegradation* 65:1119-1127.

JACKSON, M.L. 1976. *Chemical analysis of soils*. Editorial Omega S.A., Barcelona, España.

KANDELER, E.; TSCHERKO, D.; BRUCE, K.D.; STEMMER, M.; HOBBS, P.J.; BARDGETT, R.D.; AMELUNG, W. 2000. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil. *Biology and Fertility of Soils* 32:390-400.

KAPLAN, C.W.; KITTS, C.L. 2004. Bacterial succession in a petroleum land treatment unit. *Applied and Environmental Microbiology* 70(3): 1777-1786.

KOWALCHUK, G.A.; NAOUMENKO, Z.S.; DERIKX, P.J.I.; FELSKE, A.; STEPHEN, J.R.; ARKHIPCHENKO, I.A. 1999. Molecular analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the  $\beta$ .subdivision of the class Proteobacteria in compost and composted materials. *Applied and Environmental Microbiology* 65(2):396-403.

LEAHY, J.G.; COLWELL, R.R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment, *Microbiological Reviews* 54:305-315.

LEY N° 5439 DE CÓDIGO AMBIENTAL DE LA PROVINCIA DE CHUBUT Y SU DECRETO REGLAMENTARIO 993/07. Disponible:

<http://www.estrucplan.com.ar/Legislacion/Chubut/Decretos/Dec00993-07.asp>. Visitado 18 de octubre de 2016

LEY N° 2567 Y SU DECRETO REGLAMENTARIO 712/02. PROVINCIA DE SANTA CRUZ. Disponible: <http://www.santacruz.gov.ar/ambiente/anexoX.pdf>. Visitado el 10 de noviembre de 2016.

LEY AMBIENTAL PROVINCIAL N°1914 Y SU DECRETO REGLAMENTARIO 298/06. PROVINCIA DE LA PAMPA. Disponible: [http://www.lapampa.gov.ar/images/stories/Archivos/Normativa/Decretos/Decreto\\_298\\_06.pdf](http://www.lapampa.gov.ar/images/stories/Archivos/Normativa/Decretos/Decreto_298_06.pdf). Visitado el 05 de noviembre de 2016.

LOICK, N.; HOBBS, P.J.; HALE, M.D.C.; JONES, D.L. 2009. Bioremediation of polyaromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil by composting. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 39(4):271-332.

LORCH, H.J.; BENCKISER, G.; OTTOW, J.C.G. 1998. Basic methods for counting microorganisms in soil and water. En: Alef, K.; Nannipieri, P. (ed.). *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, Academic Press, Londres, pp. 153-158.

MA, Y.; ZHANG, J.Y.; WONG, M.H. 2003. Microbial activity during composting of anthracene-contaminated soil. *Chemosphere* 52(9):1505-1513.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. 2006. Brock. *Biología de los Microorganismos*, 10.<sup>a</sup> edición, Prentice-Hall International.

MARGESIN, R.; HÄMMERLE, M.; TSCHERKO, D. 2007. Microbial activity and community composition during bioremediation of diesel-oil-contaminated soil: Effects of hydrocarbon concentration, fertilizers, and incubation time. *Microbial Ecology* 53:259-269.

MEDAURA, M.C.; BALLA, M.P.; GUTIÉRREZ, P.A.; GARCÍA DE SALAMONE, I.E.; GARCÍA TORRES, T.P.; MONZÓN DE ASCONEGUI, M.A.; ÉRCOLI, E.C. 2007. Composting: bioremediation of soil contaminated with weathered hydrocarbons, Society of Petroleum Engineers, Conferencia de ingenieros del petróleo de América Latina y el Caribe. Buenos Aires, Argentina, DOI: 10.2118/108277-MS

MULLIGAN, C.N. 2005. Environmental applications for biosurfactants. *Environmental Pollution* 133(2):183-198.

NAMKOONG, W.; HWANG, E.Y.; PARK, J.S.; CHOI, J.Y. 2002. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental Pollution* 119:23-31.

PAUL, D.; PANDEY, G.; PANDEY, J.; JAIN, R.K. 2005. Accessing microbial diversity for bioremediation and environmental restoration. *Trends in Biotechnology* 23(3):135-142.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. 1996. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, San Diego, California.

PÉREZ VARGAS, J.; GARCÍA ESQUIVEL, G.; ESPARZA GARCÍA, F. 2002. Papel ecológico de la flora rizosférica en fitorremediación. *Avance y Perspectiva* 21:297-301.

PLAZA, C.; XING, B.; FERNÁNDEZ, J.M.; SENESI, N.; POLO, A. 2009. Binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by humic acids formed during composting. *Environmental Pollution* 157(1):257-263.

REARDON, K.F.; MOSTELLER, D.C.; ROGERS, J.B.; DUTEAU, N.M.; KEE-HONG, K. 2002. Biodegradation kinetic of aromatic hydrocarbon mixtures by pure and mixed bacterial cultures. *Environmental Health Perspectives* 110(12):1005-1012.

RIVERA-CRUZ, M.C.; TRUJILLO-NARCÍA, A.; FERRERA-CERRATO, R.; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, R.; VOLKE-HALLER, P.; SÁNCHEZ-GARCÍA, P.; FERNÁNDEZ-LINARES, L. 2006. Fitorremediación de suelos con benzo(a)pireno mediante microorganismos autóctonos y pasto alemán *Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo* 22:1-12.

RORIG, M.; ALDERUCCIO, S.; MALCOLM, V.; OLSEN, D.; MICHELENA, R.; GARCÍA DE SALAMONE, I.E. 2004. Estimaciones del número de microorganismos, producción de nitratos y actividad de fosfatasa alcalina en un suelo Argiudol vértico de la localidad de Ramírez, Entre Ríos, bajo siembra directa y durante la rotación trigo-soja. En: Monzón de Asconegui, M.A.; García de Salamone, I.E.; Miyazaki, S. (ed.). *Biología del Suelo. Transformación de la materia orgánica. Usos y biodiversidad de los organismos edáficos*. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina.

RON, E.Z.; ROSENBERG, E. 2002. Biosurfactans and oil bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology* 13:2499-2452.

ROSENBERG, E.; RON, E.Z. 1998. Bioremediation of petroleum contamination. En: Crawford, R.L.; Crawford, D.L. (ed.) *Bioremediation: Principles and applications*, Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido.

RUBERTO, L.A.M.; VÁZQUEZ, S.C.; CURTOSI, A.; MESTRE, M.C.; PELLETIER, E.; MAC CORMACK, W.P. 2006. Phenanthrene biodegradation in soils using an Antarctic bacterial consortium. *Bioremediation Journal* 10:191-201.

RUTIGLIANO, F.A.; ASCOLI, R.D.; DE SANTO, A.V. 2004. Soil microbial metabolism and nutrient status in a Mediterranean area as affected by plant cover. *Soil Biology and Biochemistry* 36:1719-1729.

SECRETARÍA DE AMBIENTE Y DESARROLLO SUSTENTABLE (SAYDS). 2013. Decreto 831/93 Anexo II Tabla 9. Decreto Reglamentario de la Ley 24.051 sobre régimen de desechos peligrosos.

Disponible:[http://www2.medioambiente.gov.ar/mlegal/residuos/dec831/dec831\\_anxII\\_t9.htm](http://www2.medioambiente.gov.ar/mlegal/residuos/dec831/dec831_anxII_t9.htm). Visitado el 13 de septiembre de 2016.

SEMPLE, K.T.; REID, B.J.; FERMOR, T.R. 2001. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution* 112:269-283.

SHENG, X.F.; GONG, J.X. 2006. Increase degradation of phenanthrene in soil by *Pseudomonas* sp. GF3 in the presence of wheat. *Soil Biology and Biochemistry* 38:2587-2592.

SUGIURA, K.; ISHIHARA, T.; SHIMAUCHI, T.; HARAYAMA, S. 1997. Physicochemical properties and biodegradability of crude oil. *Environmental Science and Technology* 31:45-51.

TESAR, M.; REICHENAUER, T.; SESSITSCH, A. 2002. Bacterial rhizosphere populations of black poplar and herbal plants to be used for phytoremediation of diesel fuel. *Soil Biology and Biochemistry* 34:1883-1892.

VAN HAMME, J.D.; SINGH, A.; WARD, O.P. 2003. Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 67(4):503-549.

ZUCCHI, M.; ANGIOLINI, L.; BORIN, L.; DIETRICH, N.; GINGIOTTI, C.; BARBIERI, P.; SORLINI, C.; DAFFONCHIO, D. 2003. Response of bacterial community during bioremediation of an oil-polluted soil. *Journal of Applied Microbiology* 94:248-257.

## Biografía de los autores

### Brutti, Lucrecia Noemí



Ingeniera Agrónoma de la Universidad de Entre Ríos, Magister Scientiae en Microbiología del Departamento de Microbiología y Doctora en Agronomía del Departamento de Ciencias del Suelo, ambos de la Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas. Profesional de Gestión Externa y Coordinadora del Área Edafología del Instituto de Suelos-CIRN. Docente colaborador de la materia Bioindicadores en la FAUBA y de Edafología y Manejo y Conservación de Suelos en la Facultad de Ciencias Agroalimentarias de la UM. Investigadora en temas relacionados con la biología del suelo, gestión de residuos, fijación biológica de nitrógeno, gases efecto invernadero, degradación de materia orgánica, aplicaciones de bioinsumos microbianos y biorremediación de suelos. Dirección de becarios. Correctora de publicaciones científicas. Numerosas publicaciones nacionales e internacionales.

### Beltrán, Marcelo Javier



Ingeniero Agrónomo de la Facultad de Agronomía (FAUBA). Investigador en temas relacionados con la fertilidad química del suelo, la nutrición de los cultivos, manejo y conservación de los suelos, aplicaciones de fertilizantes orgánicos y el uso de productos alternativos para el desarrollo de los cultivos. Dirección de becarios y tesis de grado. Doctorado en desarrollo en el Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur (UNS), tema: efecto del centeno como cultivo de cobertura sobre la dinámica de macro y micronutrientes. Presentaciones realizadas en congresos y publicaciones en revistas nacionales e internacionales.

**García de Salamone, Inés Eugenia**



Ingeniera Agrónoma y Magister Scientiae en Producción Vegetal, de la Facultad de Agronomía (FA) UBA y Philosophical Doctor en Ciencias del Suelo, University of Saskatchewan, Canadá. Profesora a cargo de la coordinación de la asignatura Microbiología Agrícola y Ambiental de la FAUBA. Investigadora en temas relacionados con la ecología microbiana de sistemas suelo planta, aplicaciones de bioinsumos microbianos y biorremediación de suelos contaminados con petróleo y con elevadas dosis de herbicidas. Dirección de becarios y tesis de grado y postgrado. Numerosas publicaciones nacionales e internacionales.

Este libro fue una promesa realizada durante el PRITIBIO 2013 (Primer Taller Internacional de Biorremediación) que fue organizado entre la FAUBA (Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires), la Agencia del MINCYT (Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva) y el Instituto de Suelos CIRN INTA (Centro de Investigaciones en Recursos Naturales del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). Es un compendio de las presentaciones realizadas en ese taller.

Puede definirse a la contaminación, como la presencia de un elemento o una sustancia en cantidad no aconsejable en un lugar que no corresponde. Sucede por intervención natural o antrópica y puede provenir de una fuente fija o una difusa. En cuanto al tipo de contaminante, podrían ser pesticidas, petróleo, residuos urbanos, metales pesados, residuos agrícolas, residuos pecuarios.

Biorremediación se refiere a un conjunto de metodologías que utilizan microorganismos o partes de ellos, seleccionados naturalmente o por modificaciones de la ingeniería genética, para degradar sustancias que se han trasladado a un lugar que no corresponde, o están en cantidades no recomendables como resultante de un proceso productivo mal manejado o de un incidente natural.

Bioprofilaxis, se refiere a las metodologías utilizadas para prevenir una contaminación.

La biorremediación y la bioprofilaxis podrían categorizarse por el recurso natural afectado, las herramientas utilizadas para biorremediar y/o el contaminante participante del proceso.

Los recursos naturales afectados en esta publicación se refieren al aire, al agua y al suelo.

Las metodologías utilizadas son in situ o ex situ. Estas, utilizan herramientas como la digestión anaeróbica, las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas, las plantas, la bioenergía, la simbiosis micorrízica arbuscular y las camas biológicas.

Los contaminantes a los que refiere la publicación son hidrocarburos, la actividad agropecuaria en general, el biodiesel, los metales pesados, la salinidad, los PAHs, el petróleo, los pesticidas, y el relleno sanitario (biogás y líquido lixiviado).

En lo referido a herramientas, participan transformaciones físico-químicas y bioquímicas que incluyen fermentaciones y transformaciones surgidas por el metabolismo de las plantas y los microorganismos en procesos naturales de espacio abiertos, o en procesos manejados por el hombre en espacios cerrados.

