



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Doctorado en Ingeniería

BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON
LIXIVIADOS MEDIANTE LAS TÉCNICAS DE LODOS ACTIVADOS Y
CONSORCIO MICROBIANO

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctor en Ingeniería

Presenta:

M. en C. María Yesenia Mendoza Burquete

Dirigido por:

Dr. José Alberto Rodríguez Morales

Dr. José Alberto Rodríguez Morales

Presidente

Dra. María de la Luz Pérez Rea

Secretario

Dra. Janet Ledesma García

Vocal

Dr. Juan Campos Guillén

Suplente

Dr. Carlos Guzmán Martínez

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Fecha (será el mes y año de aprobación del Consejo Universitario)
México

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.

RESUMEN

Este estudio aborda la biorremediación de suelos contaminados con lixiviados mediante el uso de consorcios bacterianos, con el propósito de evaluar su eficacia en la remoción de metales pesados. A través de una revisión sistemática a nivel mundial, se identificó que los metales pesados constituyen el 53% de las investigaciones en este ámbito, con China, India y Malasia como los principales contribuyentes. En contraste, en México, solo el 5% de los estudios se enfocan en suelos de minas y suelos naturales, sin reportes específicos en suelos de vertederos.

Para el análisis experimental, se seleccionó un vertedero con un área de 26,148 m², donde se tomaron 43 muestras de suelo contaminado (SC) y 35 muestras de suelo no contaminado (SNC) en una zona cercana. Los análisis químicos confirmaron la presencia de arsénico (93.7 mg/kg) y mercurio (1284.7 mg/kg) en concentraciones que superan los límites establecidos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Las características físicas de ambos tipos de suelo fueron similares, mientras que las propiedades químicas evidenciaron diferencias significativas: el SC presentó alta salinidad y concentraciones elevadas de macronutrientes, mientras que el SNC mostró bajos niveles de nutrientes y menor alcalinidad.

El estudio de la diversidad microbiana reveló una predominancia de la familia *Bacillaceae* en SC, lo que indica una alta adaptabilidad a ambientes contaminados, mientras que en SNC se observó una mayor presencia de *Pseudomonadaceae*, reflejando una preferencia por condiciones menos impactadas. A partir del aislamiento de cepas bacterianas y su evaluación bajo condiciones de estrés salino y exposición a diferentes concentraciones de HgCl₂, se seleccionaron nueve cepas con alto potencial biorremediador.

Las cepas seleccionadas fueron inoculadas en diferentes tratamientos experimentales para evaluar su capacidad de remoción de metales pesados. Los resultados demostraron una eliminación del 99.55% de arsénico y del 99.33% de mercurio en los suelos contaminados tratados con inóculo bacteriano, mientras que los suelos sin inoculación presentaron remociones significativamente menores (6.62% y 8.22%, respectivamente). Estos hallazgos subrayan la eficacia de los consorcios bacterianos como una alternativa viable para la recuperación de suelos impactados por lixiviados, contribuyendo al desarrollo de estrategias sostenibles de restauración ambiental.

Palabras clave: Biorremediación, lixiviado, vertederos, metales pesados, suelo contaminado.

SUMMARY

This study deals with the bioremediation of leachate-contaminated soils using bacterial consortia with the aim of evaluating their effectiveness in removing heavy metals. A global systematic review found that heavy metals account for 53% of research in this area, with China, India and Malaysia contributing the most. In contrast, only 5% of studies in Mexico focus on mine soils and natural soils, with no specific reports on landfill soils.

For the experimental analysis, a landfill with an area of 26,148 m² was selected, from which 43 samples of contaminated soil (SC) and 35 samples of uncontaminated soil (SNC) were taken from a nearby area. The chemical analyses confirmed the presence of arsenic (93.7 mg/kg) and mercury (1284.7 mg/kg) in concentrations exceeding the limits established in NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. The physical properties of the two soil types were similar, while the chemical properties showed significant differences: The SC had high salinity and high concentrations of macronutrients, while the SNC had low nutrient values and lower alkalinity.

The study of microbial diversity revealed that the *Bacillaceae* family was predominant in SC, indicating a high adaptability to contaminated environments, while a greater presence of *Pseudomonadaceae* was observed in SNC, suggesting a preference for less polluted conditions. From the isolation of bacterial strains and their evaluation under salt stress conditions and exposure to different HgCl₂ concentrations, nine strains with high bioremediation potential were selected.

The selected strains were inoculated in different experimental treatments to evaluate their ability to remove heavy metals. The results showed a 99.55% removal of arsenic and a 99.33% removal of mercury in contaminated soils treated with bacterial inoculum, while soils without inoculation showed significantly lower removals (6.62% and 8.22%, respectively). These results underline the effectiveness of bacterial consortia as a viable alternative for the remediation of leachate-contaminated soils and contribute to the development of sustainable environmental remediation strategies.

Keywords: Bioremediation, leachate, landfills, heavy metals, contaminated soil.

Dedicatoria

A **Dios**, fuente inagotable de fortaleza y guía en cada paso de mi camino. Sin Su luz, esta travesía habría sido imposible. En los momentos de incertidumbre, él me sostuvo; en las noches de desvelo, él me dio paz; y en cada logro, su gracia estuvo presente.

A la vida, que con sus retos y enseñanzas me permitió crecer, soñar y luchar por lo que hoy es una realidad.

A mis **padres**, quienes con amor y sacrificio sembraron en mí los valores y la determinación que me han traído hasta aquí. Su ejemplo de esfuerzo y dedicación ha sido mi mayor inspiración.

A mis **profesores y sinodales**, quienes con su enseñanza, retos y exigencias no solo me transmitieron conocimientos, sino que también moldearon mi carácter y me ayudaron a convertirme en la persona que soy ahora. Cada desafío que me impusieron, cada lección impartida, fueron piedras fundamentales en este camino que hoy culmina. Gracias por creer en mí, por exigirme y por inspirarme a ser una mejor versión de mí.

Y, sobre todo, a mi **esposo** y a nuestros tres hijos, mis pilares, mi refugio y mi mayor tesoro. A ustedes, que nunca me dejaron sola, que caminaron a mi lado con paciencia y amor, que creyeron en mí incluso cuando yo dudaba. A ti, mi amor, porque sin tu apoyo incondicional, tu fe en mí y tu amor inmenso, este sueño jamás habría sido posible. Gracias por sostenerme cuando flaqueé, por alentarme cuando quise rendirme y por celebrar conmigo cada pequeño avance.

A mis **hijos**, que con sus sonrisas iluminaron mis días más difíciles, que entendieron mis ausencias infinitas y transformaron mi esfuerzo en su mayor orgullo. Ustedes fueron mi motor y mi razón para no rendirme.

Esta tesis no es solo un logro académico, sino el reflejo del amor, la entrega y la unión de nuestra familia. **Hoy este sueño es realidad, y es de todos nosotros.**

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi más profundo agradecimiento al **Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT)** por su invaluable apoyo, cuya contribución fue fundamental para la realización de esta investigación a lo largo de tres años. Su respaldo hizo posible que este proyecto cobrara vida y avanzara con solidez.

Asimismo, agradezco a la **Universidad Autónoma de Querétaro** por abrirme sus puertas, permitiéndome formar parte de esta prestigiosa Institución y brindarme los recursos e instalaciones necesarias para llevar a cabo este trabajo. Su compromiso con la educación y la investigación ha sido un pilar esencial en este camino.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	
SUMMARY	3
AGRADECIMIENTOS.....	5
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Manejo de Residuos Sólidos Municipales (RSM)	9
1.2 Lixiviados tóxicos en vertederos	12
1.2.1. Metales pesados	13
1.3 Métodos biológicos para la biorremediación de suelos	15
1.3.1. Clasificación de ambientes extremos	17
1.3.2. Bacterias tolerantes a metales pesados.....	19
1.3.3. Bacterias halófilas tolerantes a metales pesados	20
1.3.4. Lodo activado	21
2. HIPÓTESIS.....	23
3. OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo General	23
3.2 Objetivos Particulares	23
4. METODOLOGÍA.....	24
4.1 Determinación de tipos de contaminantes del suelo con mayor impacto a nivel internacional.	24
4.1.1. Revisión sistemática para la identificación de contaminantes de suelo.....	24
4.2 Identificación de vertedero con suelo contaminado.....	26
4.2.1. Descripción del vertedero seleccionado.....	27
4.2.2 Muestreo del vertedero seleccionado para el desarrollo del estudio	28
4.3 Determinación de características físico-químicas del suelo de vertedero seleccionado.	32
4.4 Identificación, aislamiento y selección de cepas bacterianas capaces de resistir transformar y/o volatilizar los contaminantes seleccionados.	34
4.4.1. Extracción y secuenciación de DNA en suelo contaminado y no contaminado	34
4.4.2. Análisis bioinformático	36
4.4.3. Preparación del medio de cultivo a diferentes concentraciones de NaCl	36
4.4.3.1. Preparación de la muestra de suelo	38
4.4.4 Aislamiento y selección de bacterias halófilas a diferentes concentraciones de NaCl	40
4.4.5. Bacterias seleccionadas sometidas a estrés con HgCl ₂	40
4.4.5.1. Evaluación del estrés y selección de bacterias resistentes a HgCl ₂	42
4.4.6. Reactivación de bacterias seleccionadas para biorremediación de metales pesados en caldo TSA.....	42
4.4.7. Preparación del inóculo para aplicación en suelo contaminado y suelos experimentales.....	43
4.5 Determinación del procedimiento para medir la eficiencia de la biorremediación.	45
4.5.1. Determinación de volumen de inóculo y masa del suelo	46
4.5.2. Inoculación de tratamientos	48
4.5.3. Determinación de la capacidad de biorremediación de las cepas bacterianas seleccionadas en cada tratamiento.....	49
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
5.1 Los metales pesados, principales contaminantes del suelo a nivel mundial.	50
5.1.1. Impacto de los metales pesados	56
5.2 Identificación de vertedero con suelo contaminado.	56
5.3 Caracterización físico-química del suelo del vertedero y del área no contaminada.....	58
5.4 Resultado de análisis de metales pesados en suelo contaminado y no contaminado.....	64
5.5 Resultado comparativo de los análisis microbiológicos en suelo contaminado y no contaminado	66
5.5.1. Resultados de análisis de familia microbiana.	66
5.5.2. Resultados de análisis de genero microbiano.....	68

5.5.3 Resultados de análisis de especies microbianas	70
5.6. Diversidad microbiana filtrada con BV-BRC	73
5.7. Mapa de calor de la taxonomía bacteriana	76
5.8 Bacterias halófilas seleccionadas	84
5.9 Resultados de eficiencia de biorremediación en cada uno de los tratamientos	88
5.9.1. Nitrógeno (N)	89
5.9.2. Fósforo (P)	91
5.9.3. Potasio (K)	93
5.9.4. Conductividad Eléctrica (CE)	95
5.9.5. Materia Orgánica (MO)	96
5.9. 6. pH	99
5.9.7. Humedad	100
5.9.8. Resultados de monitoreo microbiológico	101
5.9.9. Resultados de monitoreo para determinar arsénico y mercurio	103
6 CONCLUSIONES	108
Perspectivas del proyecto	108
7 PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN	109
Participaciones en congresos y ponencias	109
Asesorías de investigación	110
Publicaciones	110
8 REFERENCIAS	110

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Residuos Sólidos Municipales depositados en sitios de disposición.	11
Figura 2. Principales contaminantes de lixiviados en vertederos de Residuos Sólidos Municipales [6].	12
Figura 3. Condiciones ambientales extremas de bacterias. [22]	18
Figura 4. Pasos para desarrollar una revisión sistemática [6].	25
Figura 5. Imagen satelital del vertedero delimitado con puntos rojos y zona no contaminada indicada con línea amarilla [47]	28
Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa de extracción de ADN directamente del suelo	34
Figura 7. Electroforesis de bacterias obtenidas de la siembra de caja Petri	35
Figura 8. Representación de la experimentación de medios de cultivo TSA a diferentes concentraciones de NaCl	38
Figura 9. Ilustración de dilución seriada de la muestra de suelo.	39
Figura 10. Cajas Petri con bacterias previamente aisladas y seleccionadas por su resistencia al HgCl ₂	43
Figura 11. Tratamientos experimentales para biorremediación de suelo.	45
Figura 12. Ilustración de suelos experimentales.	48
Figura 13. Porcentajes de principales contaminantes estudiados a nivel internacional.	55
Figura 14. Porcentaje de estudios realizados a nivel mundial.	55
Figura 15. Vista aérea del vertedero contaminado [47].	58
Figura 16. Comparación vegetativa entre el suelo contaminado (A) y suelo no contaminado (B).	62
Figura 17. Pirámide de textura del suelo que muestra los resultados del suelo no contaminado [160].	63
Figura 18. Pirámide de textura del suelo que muestra los resultados del suelo contaminado [160].	63

Figura 19.	Comparación de familias bacterianas entre el SC: Suelo contaminado y SNC: Suelo no contaminado.....	67
Figura 20.	Comparación de géneros bacterianos entre el SC: Suelo contaminado y SNC: Suelo no contaminado.....	69
Figura 21.	Comparación de especies bacterianas entre el SC: Suelo contaminado y SNC: Suelo no contaminado.....	72
Figura 22.	Resultados del cribado de la diversidad microbiana. SC: Composición taxonómica de las comunidades microbianas asociadas a la muestra del suelo contaminado, SNC: Composición taxonómica de las comunidades microbianas asociadas a la muestra del suelo no contaminado.	74
Figura 23.	Análisis metagenómicos entre el suelo contaminado (SC) y suelo no contaminado (SNC)	77
Figura 24.	Análisis de la distribución de bacterias patógenas en suelo contaminado (SC) y suelo no contaminado (SNC).....	78
Figura 25.	Mapa de calor de genes bacterianas en suelo contaminado (SC) y suelo no contaminado (SNC).	81
Figura 26.	Caracterización morfológica de nueve cepas bacterianas halófilas sometidas a concentraciones crecientes de cloruro de mercurio (HgCl ₂).	85
Figura 27.	Resultado comparativo del nitrógeno en suelos experimentales.....	89
Figura 28.	Resultado comparativo del fósforo en suelos experimentales	92
Figura 29.	Resultado comparativo del potasio en suelos experimentales.	94
Figura 30.	Resultado comparativo de la conductividad eléctrica en suelos experimentales.	96
Figura 31.	Resultado comparativo de la materia orgánica en suelos experimentales.....	97
Figura 32.	Resultado de crecimiento bacteriano a los 8 días de inoculación en los cuatro suelos experimentales.....	101
Figura 33.	Resultado de crecimiento bacteriano a los 30 días de inoculación en los cuatro suelos experimentales.....	102
Figura 34.	Resultado de monitoreo de remoción de arsénico.	104
Figura 35.	Resultado de monitoreo de remoción de mercurio	106

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Principales fuentes antropogénicas de metales pesados.	13
Tabla 2.	Productos depositados de manera constante en vertederos a cielo abierto.	15
Tabla 3.	Métodos de biorremediación de metales pesados.....	16
Tabla 4.	Caracterización de vertederos en la zona de Querétaro y sus alrededores.	26
Tabla 5.	Estudios de suelos contaminados.	30
Tabla 6.	Metodologías requeridas para análisis de parámetros.	33
Tabla 7.	Objetivo de diferentes concentraciones de NaCl del medio de cultivo.....	37
Tabla 8.	Comparación de investigaciones, masa de suelo, volumen de inóculo y tiempo de inoculación	46
Tabla 9.	Principales contaminantes estudiados a nivel internacional.....	50
Tabla 10.	Comparación de resultado del vertedero 7 respecto a la Norma Oficial Mexicana	57
Tabla 11.	Propiedades físicas del suelo.....	59
Tabla 12.	. Propiedades químicas del suelo	60
Tabla 13.	Comparación de estudios con diversas especies bacterianas identificadas en suelos afectados por lixiviados y metales pesados	82
Tabla 14.	Características morfológicas de colonias bacterianas.....	85
Tabla 15.	Resultado de la caracterización morfológica de las cepas seleccionadas.	87

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Manejo de Residuos Sólidos Municipales (RSM)

Los RSM son definidos como los desechos propios de los hogares, comercios, restaurantes, mercados y en algunos casos de las industrias (desechos que no sean considerados peligrosos), representan volúmenes considerables de basura, que requieren no sólo ser recolectados sino tratados y depositados de manera definitiva. La conciencia colectiva con respecto al significado de la basura y sus implicaciones sobre el medio ambiente y la salud, ha tomado importancia en la actualidad y esta preocupación está localizada principalmente en los países en desarrollo. Los movimientos ciudadanos que demandan mayores estándares de protección, a los servidores públicos, así como el fomento de una cultura menos consumista y cooperativa en cuanto al tratamiento del desecho, es muy reciente y poco extendida en toda América Latina[1].

Por otra parte, en lo que respecta a las instancias de gobierno, la información esta escasamente actualizada y carecen de elaboración de estrategias integrales que contemplen el problema de la basura en todo su ciclo (producción, consumo, recolección, confinamiento). En México, el municipio tiene la obligación de prestar el servicio de recolección, tratamiento y depósito final de los desechos sólidos no industriales, atendiendo a la población, en el denominado “servicio de limpia” o aseo urbano. Dado que las facultades político administrativas atribuidas al municipio son muy amplias, la regulación federal tiene poca injerencia, y las normas estatales en materia medio ambiental que podrían regular el servicio de limpia municipal son todavía muy escasas. De manera que el esfuerzo por tratar con el desecho de manera consciente y eficiente, queda en última instancia, en manos de los servidores públicos municipales o en empresas particulares que no cuentan con regulaciones supervisadas por organizaciones municipales [2].

Según la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [3], en México se generan diariamente 102,895 toneladas de residuos sólidos urbanos (RSU). De estos, se recolectan 83.93% y se disponen en sitios de disposición final 78.54% reciclando únicamente el 9.63% de los residuos generados.

La figura 1, muestra el porcentaje de Residuos Sólidos Municipales (RSM) depositados en diferentes tipos de sitios de disposición en México entre 1995 y 2004, según información de SEDESOL. Los tipos de sitios de disposición se dividen en tres categorías:

Rellenos sanitarios (RS): Sitios diseñados para minimizar los impactos ambientales, con sistemas de manejo de lixiviados, que es el líquido que se genera como consecuencia de la precipitación, escorrentía superficial y el agua de infiltración y este se filtra a través de los desechos. Los RS cuentan con sistemas de impermeabilización para evitar que los lixiviados se filtren al suelo y contaminen los mantos acuíferos. Incluyen un sistema de drenaje de lixiviados que recolecta este líquido, se realiza un tratamiento y se dispone adecuadamente. Poseen sistemas de captura de gases generados por la descomposición de la materia orgánica, como el metano, que puede ser aprovechado para generar energía. Los residuos son compactados y cubiertos periódicamente con tierra u otros materiales para reducir olores, proliferación de fauna nociva y riesgo de incendios y preparación de suelos, que son cubiertos con geomembranas para evitar la contaminación, bajo estrictas normas técnicas y ambientales.

Rellenos controlados (RC): Son sitios de disposición de residuos que presentan cierto nivel de control ambiental, pero no cumplen con todos los estándares de un relleno sanitario. En ciertos RC pueden tener medidas básicas, como una capa de tierra compactada para cubrir los residuos y reducir impactos visuales y sanitarios. En algunos casos, cuentan con drenaje parcial de lixiviados, pero este no es tan eficiente como en un RS. Generalmente no poseen sistemas avanzados para la captura de gases. Aunque son mejores que los vertederos o tiraderos a cielo abierto, aún tienen un riesgo moderado de contaminación por lixiviados debido a la falta de sistemas de impermeabilización adecuados [4].

Sitios no controlados, vertederos o tiraderos a cielo abierto: Son sitios informales donde se depositan residuos sólidos sin ninguna medida de control ambiental ni sanitaria. Los residuos son arrojados directamente al terreno, a menudo sin compactación ni cobertura. No cuentan con sistemas para la gestión de lixiviados ni para la captura de gases. Son focos de fauna nociva (ratas, aves carroñeras, insectos) y suelen emitir olores fuertes. Los lixiviados generados se filtran directamente al suelo, contaminando los mantos acuíferos y cursos de agua cercanos. Frecuentemente son utilizados de manera ilegal y sin regulaciones

sanitarias ni normativas y son los más perjudiciales. La mezcla de residuos orgánicos con residuos peligrosos, como pilas, baterías, solventes o desechos electrónicos, etc., genera lixiviados altamente tóxicos, capaces de causar contaminación severa del suelo, aire y el agua, afectando ecosistemas y salud humana.

La Figura 1 muestra cómo una proporción considerable de los residuos, especialmente en los primeros años del periodo de 1995 a 1998, fue depositada en sitios no controlados. Aunque esta tendencia disminuye en años posteriores, los tiraderos a cielo abierto aún representan una parte significativa de la disposición de residuos. Los sitios no controlados generan compuestos altamente tóxicos que contaminan el suelo, el agua subterránea y el ecosistema como se mencionó anteriormente.

Este análisis subraya la urgencia de eliminar los sitios no controlados y mejorar la gestión de residuos sólidos mediante rellenos sanitarios que prevengan la generación de lixiviados tóxicos.

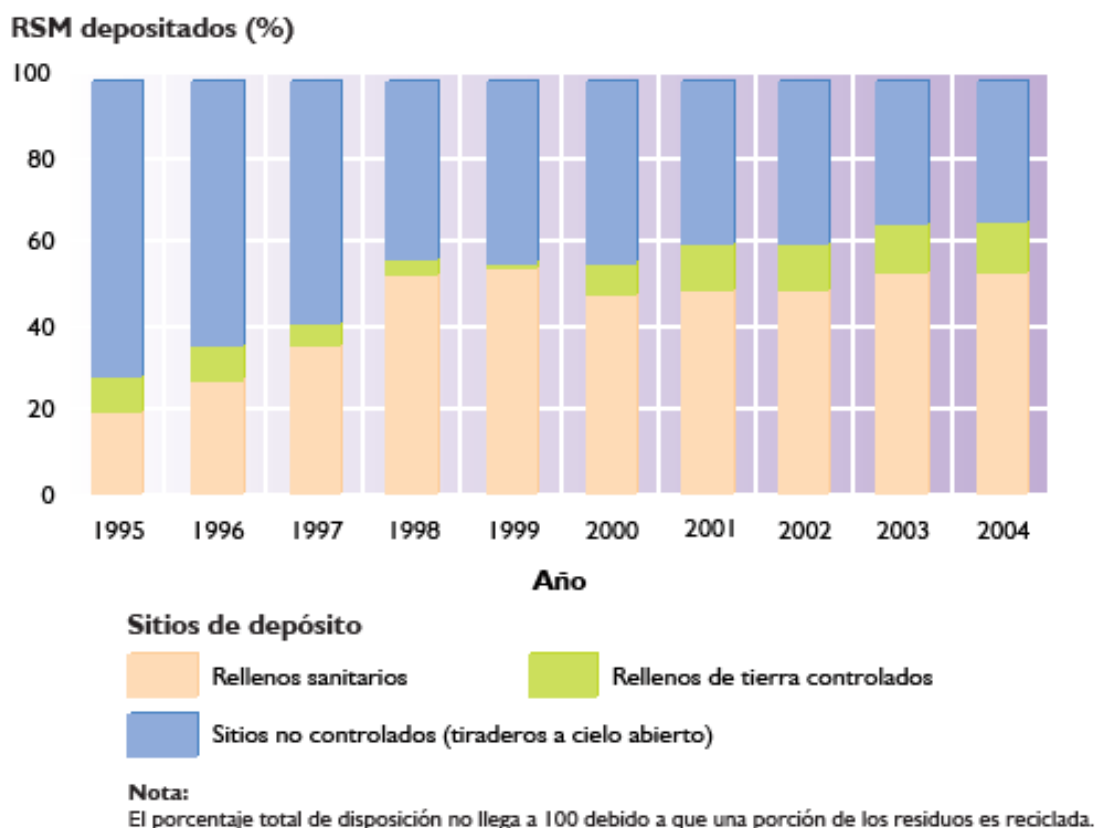


Figura 1. Residuos Sólidos Municipales depositados en sitios de disposición.
Fuente: Sedesol. Dirección General de Equipamiento e Infraestructura en Zonas Urbano-Marginadas. México. 2005 [5].

1.2 Lixiviados tóxicos en vertederos

Los lixiviados tóxicos generados en los vertederos a cielo abierto representan una grave amenaza para el medio ambiente y la salud humana debido a la composición variada y peligrosa de sus contaminantes. Entre los principales componentes identificados están los metales pesados, los hidrocarburos, los plásticos/polímeros y la materia orgánica, tal como se muestra en la Figura 2. Los metales pesados constituyen el mayor porcentaje (53%), seguidos por los hidrocarburos (26%), los plásticos/polímeros (13%) y la materia orgánica (8%). Estos residuos, al no ser tratados adecuadamente, se convierten en fuentes constantes de contaminación del suelo y el agua subterránea, ya que los lixiviados arrastran estas sustancias hacia el suelo y manto acuífero [6].

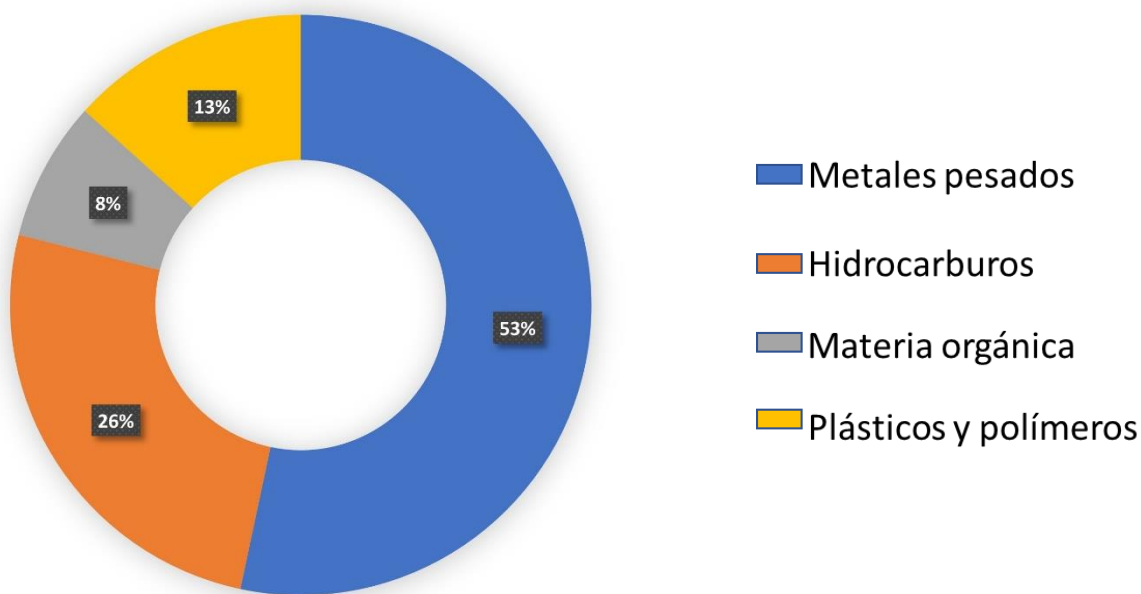


Figura 2. Principales contaminantes de lixiviados en vertederos de Residuos Sólidos Municipales [6].

Los metales pesados no pueden ser degradados fácilmente de forma natural o biológica, ya que algunos no tienen funciones metabólicas específicas para los seres vivos. En los

vertederos, estos metales suelen liberarse a partir de residuos electrónicos, baterías, pinturas y otros materiales desechados, incrementando la carga tóxica de los lixiviados [7].

Por su parte, los hidrocarburos presentes en los lixiviados provienen frecuentemente de residuos como aceites industriales, solventes y derivados del petróleo que son desechados sin tratamiento. Su naturaleza lipofílica y su persistencia en el ambiente los convierten en una preocupación significativa, ya que pueden afectar la biodiversidad y acumularse en cadenas tróficas [8].

Los plásticos y polímeros, aunque en menor proporción, también generan problemas graves, ya que al degradarse liberan compuestos tóxicos y micro plásticos que pueden infiltrarse en los ecosistemas. Finalmente, la materia orgánica contribuye al desarrollo de procesos anaeróbicos en los vertederos, lo que genera gases como metano y compuestos orgánicos volátiles que afectan tanto al clima como a la calidad del aire[9], [10].

1.2.1. Metales pesados

Los lixiviados arrastran una mezcla compleja de contaminantes, incluyendo metales pesados, hidrocarburos, plásticos y materia orgánica, destacando entre ellos los metales pesados como arsénico (As), mercurio (Hg), plomo (Pb) y cromo (Cr). Estas sustancias provienen de diversas fuentes antropogénicas, como los residuos industriales, los fertilizantes, pesticidas, lodos residuales y cenizas emitidas por actividades como la minería, la quema de carbón y los procesos industriales. En particular, los metales pesados como el arsénico y el mercurio, ampliamente utilizados en pesticidas, minería y manufactura de baterías, son altamente tóxicos y persistentes, con una alta capacidad para bioacumularse. Como se observa en la Tabla 1, estas sustancias provienen de múltiples actividades humanas, incluyendo el transporte, donde los metales pesados se depositan en carreteras debido al desgaste de neumáticos y frenos, y la agricultura, donde el uso de fertilizantes y aguas residuales introduce estos contaminantes al suelo [11].

Tabla 1. Principales fuentes antropogénicas de metales pesados.

Fuentes	Metal pesado
Lodos residuales	Cd, Pb, As, Cr, Zn, Co, B, Ba, Be, Br, Ce, Cu, Mn, Co, Ge, Hg, Mo, Ni, Rb, Sn, Sr, V y ZN
Riego	Cd, Pb, Se

Fundidoras	Pb, Cd, Sb, As, Se, In y Hg
Plaguicidas	Pb, As, Hg, Br, Cu, V y Zr
abonos	Pb, Cd, As, Hg
Minas	As, Se, Ba, Br, Co, Cr, Cu, F, Ge, Mn, Ni, Pb, Sr, Zn y Zr
Automóviles	Pb
Pinturas	Pb, Cd, Cr
Carreteras	Pb, Cr, Ni, Zn
Vertederos	Hg, As, Cd
Combustión de carbón	As, Se, Sb, Pb

Cd= cadmio, Pb= plomo, As= arsénico, Cr= cromo, Zn= zinc, Co= cobalto, B=boro, Ba= bario, Be= berilio, Br= bromo, Ce= Cerio, Cu= cobre, Mn= manganeso, Ge= germanio, Hg= mercurio, Mo= molibdeno, Ni= níquel, Rb=rubidio, Sn= estaño, Sr= estroncio, V= vanadio, Sb= antimonio, Se= selenio, In= indio, V= vanadio, Zr= circonio, F= flúor [12].

Aunque el uso de algunos metales tóxicos ha comenzado a ser sustituido lentamente en ciertas industrias y productos, su presencia sigue siendo significativa, especialmente en vertederos no controlados, donde no existe regulación normativa adecuada para su disposición final. Este panorama enfatiza la necesidad de transitar hacia una gestión más eficiente de residuos que limite los impactos ambientales y de salud asociados con los lixiviados tóxicos generados por la descomposición de residuos sólidos urbanos y residuos sólidos peligrosos [13].

En la tabla 2 se enlistan algunos de los desechos que se depositan de manera constante en vertederos a cielo abierto, donde no existe una normativa de residuos para su disposición final de manera correcta. Estos contaminantes afectan gravemente la calidad del suelo al alterar su estructura, reducir su fertilidad y afectar la biodiversidad microbiana, además de representar un riesgo para los mantos acuíferos al infiltrarse y contaminar el agua subterránea. La toxicidad y persistencia de estos metales en el ambiente también amenazan la salud humana y los ecosistemas al bioacumularse en la cadena trófica [14] .

Tabla 2. Productos depositados de manera constante en vertederos a cielo abierto.

Origen	Sb	As	Cd	Cu	Cr	Hg	Ni	Pb	Zn
Baterías eléctricas			*	*			*	*	
Curtidos de pieles				*	*				
Eléctrica y electrónica			*	*	*		*	*	*
Farmacéuticas		*		*	*				*
Fertilizantes		*	*	*	*	*	*	*	*
Fotografía			*	*	*			*	
Fundiciones		*	*	*	*		*	*	*
Galvanizados			*	*	*		*	*	*
Minería	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Motores de vehículos			*	*	*				*
Papeleras y similares				*	*		*	*	*
Pesticidas		*		*	*	*		*	*
Pigmentos, tintes, tintas, pinturas	*		*	*	*		*	*	*
Plásticos	*		*		*				*
Química y petroquímica	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Textiles	*			*	*				*
Lámparas fluorescentes, focos						*			
Aceites y piezas metálicas					*		*	*	
Residuos de construcción					*				
Pilas y baterías alcalinas			*			*	*		

Cd= cadmio, Pb= plomo, As= arsénico, Cr= cromo, Zn= zinc, Cu= cobre, Hg= mercurio, Ni= níquel, Sb= antimonio. [14]

1.3 Métodos biológicos para la biorremediación de suelos

Los métodos biológicos, conocidos como biorremediación, utilizan el potencial metabólico de organismos vivos como bacterias, hongos y plantas para eliminar contaminantes del ambiente, convirtiéndose en una herramienta esencial en la gestión de sitios contaminados. Este enfoque se basa en procesos naturales que ofrecen alta especificidad para tratar metales pesados mediante mecanismos como la bioadsorción, bioprecipitación, biolixiviación y biovolatilización, como se muestra en la tabla 3, los cuales

logran transformar metales tóxicos en formas menos dañinas o incluso no tóxicas. Además, la biorremediación es frecuentemente más económica, sostenible y segura en comparación con las tecnologías convencionales, lo que la hace altamente viable para la descontaminación de suelos y aguas impactados por estos compuestos.

Tabla 3. Métodos de biorremediación de metales pesados

Método	Fundamentación	Descripción	Microorganismo
Bioabsorción	Los metales pesados son absorbidos pasivamente a los componentes celulares de los microorganismos debido a atracciones electrostáticas [15].	Al tener los metales carga positiva son atraídos por las cargas negativas de los grupos carboxilos, fosforilos y aminos presentes en las paredes celulares, membranas y materiales extracelulares de bacterias y hongos	Algunos géneros microbianos utilizados con éxito para remover cadmio, plomo y cobre son <i>Rhizopus</i> , <i>Penicilium</i> y <i>Phanerochaete</i> [16].
Bioprecipitación	Ciertos metales pesados pueden ser inmovilizados debido a la acción bacteriana con la capacidad de reducirlos a un estado redox menor reduciendo su biodisponibilidad.	Ocasiona que formas oxidadas de metales pasen rápidamente a formas reducidas que se precipitan fácilmente en una solución acuosa.	Un grupo muy importante en este sentido son las bacterias sulfato reductoras constituido por los géneros <i>Desulfovibrio</i> , <i>Desulfomonas</i> , <i>Desulfobacter</i> , entre otros, [17]
Biolixiviación	Consiste en la acidificación del medio por la movilización de protones a través de la membrana plasmática ocasionando una liberación de metales.	Bacterias que fijan bióxido de carbono y obtienen energía de la oxidación de compuestos.	Bacterias que oxidan azufre y hierro como <i>Thiobacillus thiooxidans</i> , <i>T. ferrooxidans</i> y <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> [18]
Biovolatilización	Algunas bacterias y hongos pueden llevar a cabo la metilación de metales pesados y metaloides como el Hg, As y Se.	Los metales metilados pueden ser reducidos a otras formas por medio de reacciones enzimáticas bacterianas [19].	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Deinococcus radiodurans</i> [20].

Dentro de los microorganismos más destacados en la biorremediación de metales pesados, las bacterias desempeñan un papel preponderante debido a su capacidad de adaptarse a ambientes extremos y metabolizar compuestos tóxicos. Por ejemplo, bacterias como *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* son conocidas por su habilidad para biorremediar arsénico, transformándolo a formas menos móviles y menos tóxicas como el arseniato (As(V)). En el caso del mercurio, especies como *Pseudomonas putida* y

Escherichia coli poseen genes *mer*, que les permiten reducir el mercurio inorgánico (Hg^{2+}) a mercurio elemental (Hg^0), una forma menos tóxica y fácilmente volatilizable. Estas capacidades metabólicas no solo contribuyen a la descontaminación, sino que también ayudan a restaurar la funcionalidad de los ecosistemas afectados.

Es por ello que la diversidad microbiana en los suelos de vertederos contaminados con lixiviados es un factor clave para entender los procesos de degradación, mitigación de contaminantes y recuperación de estos ecosistemas. Los lixiviados, ricos en compuestos orgánicos e inorgánicos tóxicos como metales pesados, hidrocarburos y residuos orgánicos, generan condiciones extremas en el suelo, incluyendo alta toxicidad, cambios de pH, y deficiencias de oxígeno, lo que impacta significativamente las comunidades microbianas. Por lo tanto, el estudio de la diversidad microbiana no solo permite entender los mecanismos de resistencia y adaptación microbiana, sino que también ofrece un potencial considerable para desarrollar tecnologías de biorremediación más efectivas para suelos contaminados.

1.3.1. Clasificación de ambientes extremos

Los ambientes extremos presentan condiciones físicas y químicas poco habituales, como temperaturas extremas, pH extremo, alta presión hidrostática, salinidad elevada, potencial redox anómalo o concentraciones tóxicas de metales, entre otros. Estas condiciones, que resultan desfavorables o letales para la mayoría de los organismos, son habitadas por microorganismos adaptados denominados extremófilos. Los extremófilos no solo toleran estos entornos extremos, sino que en muchos casos los requieren para su supervivencia y desarrollo. Estos organismos, en su mayoría procariotas, están clasificados según las condiciones específicas en las que prosperan, como termófilos, psicrófilos, acidófilos, alcalófilos y halófilos, entre otros [21].

Como muestra la Figura 3, cada tipo de extremófilo posee adaptaciones específicas para enfrentar las condiciones ambientales de su nicho. Los psicrófilos, que prosperan en ambientes fríos, producen enzimas con una alta flexibilidad estructural y moléculas anticongelantes que evitan la cristalización del agua intracelular. Los acidófilos y alcalófilos regulan activamente su pH intracelular mediante transportadores de protones y mecanismos de exclusión de iones, asegurando que su citoplasma permanezca en condiciones cercanas a la neutralidad. Los

termófilos, por otro lado, tienen membranas celulares ricas en ácidos grasos saturados que les otorgan rigidez y resistencia al calor, y sus proteínas están altamente estabilizadas por un mayor número de enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y una menor flexibilidad estructural [22].

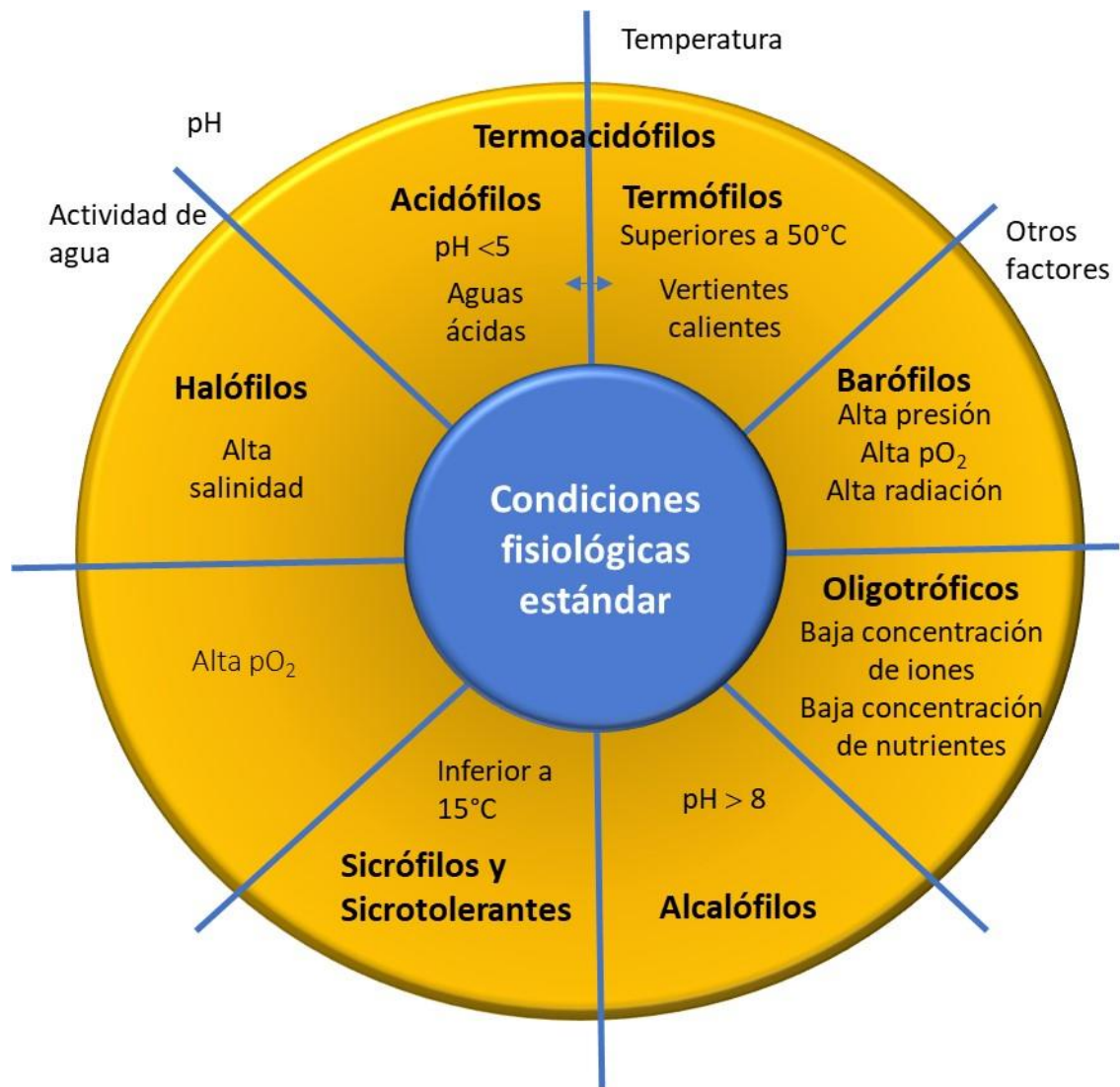


Figura 3. Condiciones ambientales extremas de bacterias. [22]

Un grupo especialmente interesante de extremófilos son las bacterias halófilas, que prosperan en ambientes con alta concentración de sal, como salinas, lagos hipersalinos o suelos salinos. Estas bacterias han desarrollado estrategias moleculares y fisiológicas únicas para enfrentar el estrés osmótico que genera un medio con alta salinidad. Por ejemplo,

acumulan solutos compatibles, como glicina betaína o trehalosa, en sus citoplasmas para equilibrar la presión osmótica externa sin afectar su maquinaria celular. Además, sus enzimas y proteínas están adaptadas para mantener su funcionalidad en presencia de altas concentraciones de cloruro de sodio[23].

Es importante distinguir entre los organismos halófilos y halotolerantes. Los halófilos son aquellos que requieren obligatoriamente concentraciones elevadas de sal para crecer y sobrevivir, mientras que los halotolerantes son capaces de soportar ambientes salinos, pero también pueden desarrollarse en medios con bajas concentraciones de sal. Este último grupo es especialmente relevante en la biorremediación, ya que suele actuar en un rango más amplio de condiciones ambientales [24].

Los estudios sobre microorganismos halófilos y halotolerantes han demostrado su gran potencial en aplicaciones biotecnológicas, como la producción de enzimas industriales, pigmentos y polímeros, así como en la biorremediación de ambientes contaminados con metales pesados o hidrocarburos en zonas de alta salinidad [25], [26], [27]. Su capacidad de adaptación los convierte en modelos ideales para explorar los límites de la vida y desarrollar estrategias para mitigar la contaminación ambiental en condiciones extremas

1.3.2. Bacterias tolerantes a metales pesados

Las bacterias desempeñan un papel crucial en la biorremediación de metales pesados presentes en suelos y aguas residuales, proporcionando alternativas más sostenibles y ambientalmente responsables frente a los métodos tradicionales. La capacidad de algunas bacterias para tolerar, bioacumular o eliminar metales pesados se ha documentado ampliamente, y estos microorganismos han demostrado ser efectivos en la mitigación de los impactos ambientales asociados a la contaminación por metales pesados. Esto se debe, en parte, a la evolución de una microbiota tolerante en sitios contaminados, como señalan investigaciones previas [28], [29], [30].

En diversos estudios, se ha observado que bacterias nativas de áreas contaminadas desarrollan mecanismos que les permiten tolerar y detoxificar metales pesados. Por ejemplo, [31] evaluaron la especie *Bacillus sp.* ES 29 (ATCC: BAA-696) en un biorreactor, donde tanto células inmovilizadas como extractos enzimáticos libres de células lograron reducir Cr^{6+} con una eficiencia del 84% al 98%. Estos resultados posicionan a *Bacillus sp.* como un candidato prometedor para aplicaciones a escala industrial.

En el caso de *Pseudomonas aeruginosa* PU21, [32] demostraron que esta bacteria inmovilizada en pellets era capaz de adsorber plomo (Pb^{2+}) bajo condiciones de pH 5.0 y 40°C, logrando una bioacumulación de 0.723 mg de Pb por gramo de células. Por otro lado, [33] reportaron que *Pseudomonas putida* mostró una alta capacidad de absorción de cobre (Cu^{2+}), alcanzando 96.9 mg de cobre por gramo de biomasa a 30°C y pH 5.5, con una concentración inicial de 100 mg/L.

[34] estudiaron la especie *Sphaerotilus natans* en pruebas con reactores de membrana y encontraron que el pH influía significativamente en la bioadsorción de cobre. En condiciones iniciales de 30°C y una concentración de 100 mg/L, las bacterias lograron una absorción de 60 mg/g a pH 6.0, en comparación con solo 15 mg/g a pH 4.0. Asimismo, [35] trabajaron con *Enterobacter* sp. aislada de una planta de tratamiento de aguas residuales y observaron su capacidad para captar 50.9 mg de plomo, 32.5 mg de cobre y 46.2 mg de cadmio por gramo de células en condiciones específicas de pH y temperatura.

La biorremediación de cromo hexavalente (Cr^{6+}) también ha sido ampliamente estudiada. [36] destacaron el uso de microorganismos para la reducción de Cr^{6+} a Cr^{3+} mediante procesos enzimáticos y la producción de metabolitos reductores. [37] reportaron que bacterias como *Bacillus* sp. y *Staphylococcus capitis* lograron reducir Cr^{6+} con eficiencias del 86% y 89%, respectivamente, tras 144 horas de exposición. [38] documentaron la capacidad de *Intrasporangium* sp. para reducir Cr^{6+} en condiciones aeróbicas, lo que subraya el potencial de estas bacterias para aplicaciones ambientales.

El uso de bacterias en la biorremediación no solo ofrece una solución efectiva para mitigar la contaminación por metales pesados, sino que también representa una alternativa económica y ecológica frente a tecnologías convencionales. Los avances en biotecnología y microbiología permiten optimizar estos procesos, aumentando la eficiencia de las bacterias en la eliminación de contaminantes y ampliando su aplicabilidad en diferentes contextos ambientales.

1.3.3. Bacterias halófilas tolerantes a metales pesados

Las bacterias halófilas, incluidas aquellas moderadamente halófilas, han demostrado ser modelos prometedores para investigar los mecanismos moleculares asociados a la resistencia a metales pesados. Estas bacterias, adaptadas a condiciones salinas extremas, poseen estrategias bioquímicas y genéticas únicas que las hacen capaces de sobrevivir y prosperar en ambientes

altamente contaminados con metales [30].

Además de su resistencia al zinc, *H. zincidurans* B6 y *Chromohalobacter israelensis* DSM 6768 crecen en presencia de hasta 0.5 mM de Hg^{2+} en medios sólidos [25]. Análisis genómicos han identificado en estas bacterias la presencia de sistemas de transporte especializados, como bombas de flujo específicas de metales, factores reguladores de transcripción y enzimas como reductasas mercuríicas. Estos elementos genéticos son fundamentales para mediar la resistencia a diversos metales pesados [39], [40]

Por otro lado, estudios sobre *Marinobacter manganoxydans* Mnl7-9, una bacteria ligeramente halófila aislada de sedimentos marinos de aguas profundas, han revelado genes asociados con la multirresistencia a metales como níquel, cobre, cromo, arsénico, zinc, cobalto y cadmio [41]. Este hallazgo subraya la versatilidad de las bacterias halófilas para adaptarse a ambientes contaminados.

Asimismo, investigaciones recientes [24], [42], [43] sobre haloarqueas pertenecientes a géneros como *Haloferax*, *Halococcus*, *Halorubrum* y *Haloarcula* han reportado patrones de resistencia similares a los descritos previamente [26]. Entre estas, *Haloferax* BBK2 y *Halococcus* BK6 mostraron la mayor tolerancia a Cd^{2+} y Zn^{2+} , con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 0.5 mM. Sin embargo, las concentraciones que favorecen el crecimiento de estas cepas en medio de agar NTYE fueron de hasta 4 mM de Cd^{2+} y 2 mM de Zn^{2+} ([42]).

Los determinantes genéticos comunes de resistencia a metales pesados, como arsénico, cadmio y mercurio, se han identificado en varios géneros de arqueas. Estos incluyen operones de arsénico (*arsADRC* y *arsR2M*) presentes en el plásmido pNRC100, así como el gen cromosómico *arsB*, que confiere resistencia al arsénico en *Halobacterium* sp. NRC-1 [23], [44]. Estas adaptaciones moleculares, compartidas entre bacterias y arqueas halófilas, refuerzan su potencial para aplicaciones biotecnológicas y ambientales.

1.3.4. Lodo activado

Los lodos activados se definen como una mezcla de microorganismos, principalmente bacterias, protozoos y hongos, que se desarrollan en sistemas de tratamiento de aguas principalmente, bajo condiciones aerobias controladas[45], [46]. Estos microorganismos al reproducirse en un entorno adecuado facilitan la degradación de materia orgánica y otros contaminantes. Para este proyecto, aunque no se emplearon lodos activados en su forma

tradicional, la utilización de este concepto radica en la capacidad de enriquecer el suelo con microorganismos especializados en la degradación de contaminantes presentes en el suelo contaminado con lixiviado. Estos microorganismos previamente aislados en laboratorio y seleccionados de acuerdo a la tolerancia de NaCl y resistencia al HgCl₂, al conjugarse con las bacterias nativas del suelo contaminado siendo éste, rico en contenido orgánico, propiciando la estimulación y simbiosis de los microorganismos presentes en el suelo contaminado siendo los responsables de degradar, eliminar o mineralizar los contaminantes simples o complejos.

La relevancia de este estudio radica en la contribución y desarrollo de estrategias innovadoras y sostenibles para la remediación de suelos contaminados con lixiviados, un problema ambiental de gran impacto. Científicamente, esta investigación amplía el conocimiento sobre la biorremediación mediante consorcios bacteriano, demostrando su alta eficiencia en la eliminación de arsénico y mercurio, metales pesados con alta toxicidad y persistencia en suelos. Así mismo este estudio aporta datos valiosos sobre la diversidad bacteriana en suelos contaminados y su potencial aplicación en procesos de descontaminación y ofrece diversas perspectivas como el estudio de bacteria resistentes a antibióticos y agentes patógenos. En el ámbito social, la implementación de estas estrategias ofrece mitigar los riesgos para la salud humana y mejorar la calidad ambiental en zonas afectadas por vertederos, especialmente en países como México, donde la investigación sobre suelos contaminados por lixiviados es escasa. Por lo que el presente estudio no solo proporciona un marco científico sólido para futuras investigaciones, sino que también respalda la necesidad de integrar soluciones biotecnológicas y gestión ambiental.

2. HIPÓTESIS

La combinación de bacterias halófilas resistentes a mercurio (Hg) y arsénico (As), ajustada a las condiciones fisicoquímicas del suelo, incrementará la eficiencia de la biorremediación en suelos contaminados de un vertedero, debido a su capacidad para adsorber y biotransformar estos metales bajo condiciones específicas, proporcionando una solución sostenible para la remediación de metales pesados.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Determinar y evaluar la combinación adecuada de las bacterias de acuerdo a las características físico-químicas del suelo del vertedero y tipo de contaminante, que mejore la eficiencia de la biorremediación en suelos salinos.

3.2 Objetivos Particulares

- Determinar los tipos de contaminantes del suelo de vertedero con mayor impacto a nivel internacional.
- Identificar el vertedero con suelo contaminado como objeto de estudio.
- Determinar características físico-químicas del suelo de vertedero seleccionado.
- Identificar, aislar y seleccionar las cepas bacterianas capaces de resistir, transformar y/o volatilizar los contaminantes seleccionados.
- Evaluar la eficiencia de la biorremediación, determinando la capacidad de las cepas bacterianas seleccionadas para degradar los metales pesados (Hg y As) presentes en el suelo contaminado.

4. METODOLOGÍA

4.1 *Determinación de tipos de contaminantes del suelo con mayor impacto a nivel internacional.*

Para identificar los contaminantes de suelo más relevantes a nivel global, se llevó a cabo una revisión sistemática de la literatura científica centrada en la contaminación de suelos, con énfasis en aquellos impactados por lixiviados de vertederos y tratados mediante biorremediación con microorganismos. Este análisis integró información proveniente de estudios realizados en diversas regiones del mundo, permitiendo identificar patrones de contaminación, tipos de compuestos predominantes y su impacto ambiental. Como resultado, se elaboró y se publicó un artículo científico titulado "*Global Situation of Bioremediation of Leachate-Contaminated Soils by Treatment with Microorganisms: A Systematic Review*", en el cual se describen los contaminantes más frecuentes, entre ellos metales pesados (arsénico, mercurio, cadmio, plomo), compuestos orgánicos persistentes y nutrientes en exceso [6]. Este trabajo constituye un marco de referencia para el diseño de estrategias de biorremediación, proporcionando una base científica sólida para determinar el contaminante objetivo a biorremediar en suelos de un vertedero como parte del primer objetivo de esta investigación y con ello abordar la problemática ambiental que preocupa a nivel internacional.

4.1.1. Revisión sistemática para la identificación de contaminantes de suelo

Para el desarrollo de la revisión sistemática sobre los contaminantes de suelo presentes en lixiviados y su tratamiento mediante biorremediación, se siguieron los pasos descritos en la figura 4. Con cuatro pasos importantes que filtran la información, mejorando la búsqueda y evitando sesgos. Estos pasos consistieron en la Identificación, donde por medio de búsqueda avanzada y operadores booleanos, se ingresaron a Scopus (n = 289), Web of Science (n = 106) y PubMed (n = 108), junto con 200 registros adicionales obtenidos a través de Google Scholar para la búsqueda de esta información. De estas plataformas se encontraron un total de 703 registros de artículos científicos. Una vez concentrada toda la información obtenida, se procedió a la proyección, eliminando duplicados, reduciendo el total de registros a 564. Posteriormente, se

descartaron 220 registros tras analizar sus títulos y comprobar que no cumplían los criterios de inclusión. Seguido de la admisión, en el cual se evaluaron 344 artículos completos, de los que 192 fueron descartados por razones como irrelevancia temática, enfoque en contaminantes no presentes en suelos lixiviados, o metodología no convencional. Finalizando con la Inclusión, al ser eliminados los artículos anteriores quedaron 152 estudios que cumplieron con los criterios establecidos para ser considerados en la revisión sistemática. Cada uno de los artículos fueron analizados exhaustivamente para extraer información relevante que indicara cuales han sido los contaminantes más estudiados a nivel mundial.

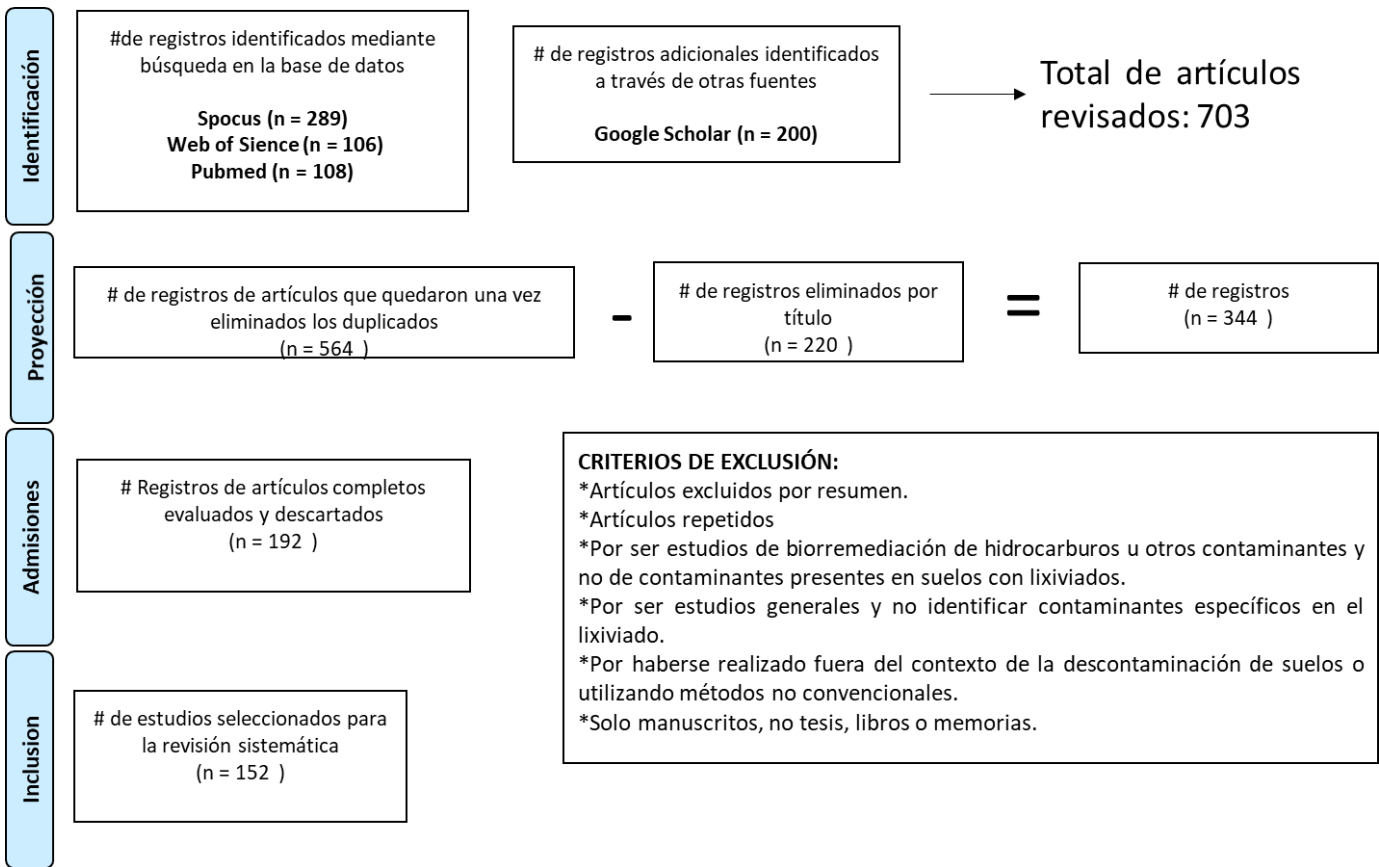


Figura 4. Pasos para desarrollar una revisión sistemática [6].

Los criterios de exclusión incluyeron eliminación de artículos repetidos, estudios generales, documentos fuera del alcance temático, y textos no académicos como tesis, libros o memorias. Este procedimiento aseguró la calidad y relevancia de los artículos analizados, garantizando una revisión científica sólida y representativa del estado global de la contaminación de suelos.

4.2 Identificación de vertedero con suelo contaminado

Se realizó una búsqueda exhaustiva de vertederos ubicados en la zona de Querétaro y sus alrededores, con el objetivo de identificar un sitio contaminado con metales pesados para desarrollar el estudio. Se seleccionaron siete vertederos y se analizaron muestras compuestas de cada sitio para determinar la concentración de metales pesados como arsénico, mercurio, cadmio, cobre, cromo y plomo, cuyos resultados se presentan en la tabla anexa. Cada muestra compuesta tomada de cada vertedero, se realizó mediante la digestión realizada en el laboratorio de aguas residuales del Campus Aeropuerto de la Universidad Autónoma de Querétaro y llevada a un laboratorio certificado para su análisis mediante técnica espectroscopía de absorción atómica (ASS) y posterior resultado que se presenta en la tabla 4.

Tabla 4. Caracterización de vertederos en la zona de Querétaro y sus alrededores.

Vertederos	Arsénico (mg/kg)	Mercurio (mg/kg)	Cadmio (mg/kg)	Cobre (mg/kg)	Cromo (mg/kg)	Plomo (mg/kg)
V1	12	0.1	0.5	1.5	20	40
V2	10	0.2	0.6	2.2	25	45
V3	13	0.3	0.8	3.8	30	50
V4	8	0.25	0.7	2.3	28	48
V5	14	0.18	0.9	1.9	22	42
V6	11	0.22	0.4	1.7	26	46
V7	93.7	1284.7	0.08	4.9	12	6.38
NOM-147- SEMARNAT/SSA1- 2004	22	23	37	10	280	400

Cd= cadmio, Pb= plomo, As= arsénico, Cr= cromo, Cu= cobre, Hg= mercurio.

Los resultados mostraron que la mayoría de los vertederos presentan niveles de metales dentro de los límites máximos permisibles establecidos por la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, con la excepción del vertedero siete (V7), que registró niveles significativamente elevados

de arsénico (93.7 mg/kg) y mercurio (1284.7 mg/kg), superando los valores normativos y evidenciando una fuerte contaminación.

Cabe señalar que, debido a conflictos de intereses con los propietarios de los vertederos, las coordenadas de estos sitios no se revelan en este estudio. Este acuerdo permitió obtener el acceso necesario para la toma de muestras iniciales y el análisis de cada sitio, asegurando el cumplimiento ético y la confidencialidad requerida para el desarrollo de este trabajo. Estos resultados guiaron la selección del sitio de estudio para evaluar la viabilidad de biorremediación mediante microorganismos.

4.2.1. Descripción del vertedero seleccionado

El vertedero, ubicado en el noreste del centro de México, ha servido como sitio de disposición para los residuos sólidos urbanos generados por las ciudades aledañas. La región presenta un clima semiárido, con una temperatura promedio anual que oscila entre 16.7 y 19 °C, y una precipitación media anual de 576 mm. La temporada de lluvias se concentra principalmente entre junio y septiembre, caracterizándose por lluvias moderadas que constituyen la mayor parte de las precipitaciones anuales. El área experimenta un clima típico de zonas semiáridas, con días cálidos y noches frescas.

Aunque el vertedero está oficialmente cerrado, los habitantes de comunidades cercanas continúan depositando residuos sólidos urbanos en el lugar. Esta actividad ha generado pendientes pronunciadas e inestables, además de la acumulación de lixiviados en la masa de residuos y la esorrentía de estos contaminantes hacia el entorno.

Este vertedero se centra en dos áreas principales: el vertedero de suelo contaminado con metales pesados, delimitado por una línea roja con un perímetro de 742.07 m y un área de 26,148 m², y un área con suelo no contaminado, delimitada por la línea amarilla con un perímetro de 659.05 m y un área de 24,720.18 m² como muestra la figura 5. En el vertedero y en la zona no contaminada, se realizaron muestreos compuestos para evaluar la concentración de metales pesado, analizar el perfil de cada sitio, además del aislamiento de bacterias resistentes para estudios de biorremediación.



Figura 5. Imagen satelital del vertedero delimitado con puntos rojos y zona no contaminada indicada con línea amarilla [47] .

El muestreo en ambas áreas fue determinante, ya que permitió establecer una línea base de comparación para determinar el impacto de la contaminación, evaluar cambios en la diversidad microbiana y validar la eficacia de las estrategias de biorremediación. Este enfoque fundamentado y comparativo resulta de suma importancia para comprender el efecto de los metales pesados en los ecosistemas y para el desarrollo de soluciones biotecnológicas aplicadas a la remediación ambiental.

4.2.2 Muestreo del vertedero seleccionado para el desarrollo del estudio

Para el muestreo de suelo en el vertedero contaminado con metales pesados y la zona cercana de suelo no contaminado, se realizaron muestras compuestas para garantizar una

representación adecuada de la heterogeneidad del suelo. Las muestras se tomaron a una profundidad de 0-30 cm, correspondiente a la capa biológicamente activa y como describen la Norma oficial Mexicana NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 [48]. En la zona contaminada, se definió un perímetro de 905.56 m, recolectándose 43 muestras, de las cuales 8 muestras fueron ubicadas cerca de zonas de escorrentía de lixiviados y 35 distribuidas aleatoriamente en el vertedero y áreas libres de residuos visibles y en la zona no contaminada, se delimitó un perímetro de 827.21 m, recolectándose 33 muestras con el mismo método de muestreo aleatorio. Cada muestra simple se colocó en un recipiente estéril, y posteriormente se combinaron para formar muestras compuestas, minimizando sesgos y garantizando representatividad. Se colocaron en bolsas estériles herméticas, se etiquetaron y almacenaron a 5°C en cajas herméticas para ser transportados al laboratorio para su posterior análisis.

Todas las herramientas utilizadas fueron desinfectadas antes de cada muestreo para evitar contaminación cruzada. Aunque en México no existe normativa específica para el muestreo en vertederos, el procedimiento se fundamentó en las normas NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 y NOM-021-RECNAT-2000 [48], [49], además de realizar investigación con otros estudios como se muestra en la tabla 5. La tabla muestra estudios realizados en suelos de vertederos y zonas contaminadas en diferentes países, destacando profundidades de muestreo de 10 a 30 cm como estándar, ya que esta capa superficial suele acumular contaminantes debido a la interacción con lixiviados y sedimentos. Además, en algunos casos se emplearon intervalos menores, como 2-12 cm, para perfiles contaminantes más detallados. La inclusión de replicados, como duplicados o triplicados, garantiza la representatividad y confiabilidad de los datos, especialmente en suelos heterogéneos. Los estudios que comparan suelos contaminados con controles naturales, como en China (2020) y España (2022), resaltan la importancia de contar con zonas de referencia para evaluar el impacto ambiental y validar resultados. Los contaminantes más comunes incluyen metales pesados como Pb, As, Cd, Cu, Zn y Cr, lo que respalda el enfoque en mercurio y arsénico para este estudio. Con base en esta información, se propone un muestreo a una profundidad de 0-30 cm en el vertedero y en la zona no contaminada, acompañado de replicados, para caracterizar la contaminación, analizar la diversidad microbiana y establecer una línea base ecológica confiable. Este protocolo de muestreo aseguró el análisis preciso de las

características químicas y ambientales del suelo en ambas zonas.

Tabla 5. Estudios de suelos contaminados.

Año	País	Escala	Tipo de muestra	Profundidad de muestra	No. de replicas	Tipo de suelo	Contaminante	Ref.
2017	Malasia	Laboratorio	Compuesta	30 cm	Duplicado	Vertedero no activo	Pb, Al y Mn	[50]
2017	España	Piloto	Compuesta	15 cm	No específica	Vertedero	As, Cu, Zn, Ni, Pb, y Cd	[51]
2017	Malasia	Laboratorio	Compuesta	20 cm	No específica	Suelo de vertedero y suelo de jardín	Pb, Al, y Cu	[52]
2017	Malasia	Laboratorio	Compuesta	30 cm	No específica	Vertedero	Pb, As, Mn, Ni, y Cr	[53]
2018	China	Laboratorio	Compuesta	30 cm	No específica	Vertedero	As, Hg, Cd, Cu, Pb, Zn, Cr.	[54]
2018	Filipina	Laboratorio	Compuesta	10-15 cm	Triplicado	Vertedero	Pb	[55]
2018	Malasia	Laboratorio	Compuesta	20 cm	No específica	Vertederos activos (operativos) y cerrados (no operativos)	Mg, Al, Si, Cr, Mn, Cu, Ni, Co, Zn, As, Ag, Cd, Hg, y Pb	[56]
2019	china	Laboratorio	Compuesta	Intervalos de 2 cm hasta 12 cm	No específica	Vertedero	Cr, Ni, Pb, Mn, Cu, Zn, y Cd	[57]

2019	Malasia	Laboratorio	Compuesta	30 cm	Triplicado	Vertedero no activo desde 2005	As, Mn, Cu, Cr y Fe.	[58]
2020	Nigeria	Laboratorio	Compuesta	15-20 cm	No específica	Vertedero	Cd y Pb	[59]
2020	Bangladesh	Laboratorio	Compuesta	15-20 cm	Triplicado	Vertedero de curtiduría	Cr (VI)	[60]
2020	Malasia	Laboratorio	Compuesta	30 cm	Triplicado	Vertederos de residuos sólidos urbanos (clausurado)	Cr, Cu, As, Fe, Mn	[61]
2020	Malasia	Laboratorio	Compuesta	30 cm	Triplicado	Vertederos de residuos sólidos urbanos (clausurado)	Ni, Pb y Zn	[7]
2020	China	Laboratorio	Compuesta	25 cm	No específica	Suelo Natural	Pb, Cr, Cd, Cu, Mn, y Zn	[62]
2021	Eslovaquia	Laboratorio	Compuesta	10 cm	Duplicado	Suelo contaminado artificialmente (tecnosuelos)	Pb, Zn, Cu, As, Ni, Ba, Co, Hg	[63]
2022	Malasia	In situ	Compuesta	30 cm	Triplicado	Vertedero	As, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, y Zn	[64]
2022	Brasil	Laboratorio	Compuesta	40 cm	Triplicado	Lixiviado de vertederos	Elementos tóxicos	[65]

Al=aluminio, Ag=plata, Cd= cadmio, Ba=bario, Pb= plomo, As= arsénico, Cr= cromo, Cu= cobre, Mn= manganeso, Co= cobalto, Hg= mercurio, Mo= molibdeno, Ni= níquel, Zn= zinc, Fe= hierro.

4.3 Determinación de características físico-químicas del suelo de vertedero seleccionado.

La preparación de las muestras de suelo se llevó a cabo siguiendo la metodología establecida en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000, la cual detalla los procedimientos para obtener resultados representativos y confiables en el análisis de suelos. Inicialmente, las muestras recolectadas fueron colocadas en bandejas limpias y homogéneas para ser secadas a temperatura ambiente durante 24 horas, evitando la exposición directa a la luz solar para prevenir alteraciones en sus propiedades fisicoquímicas. Una vez secas, las muestras fueron sometidas a un proceso de molienda utilizando mortero y mazo no metálicos para evitar contaminación cruzada. Posteriormente, se tamizaron utilizando una malla de 2 mm, separando la fracción fina para los análisis requeridos. Este procedimiento garantizó la homogeneidad de las muestras y la preservación de sus características esenciales, cumpliendo con los estándares técnicos para las evaluaciones físico-químicas del suelo. En la tabla 6 se enlistan las normas oficiales que se utilizaron para analizar los diferentes parámetros físico-químicos de las muestras de suelo recolectadas en la zona del vertedero y la zona no contaminada, empleando reactivos analíticos certificados y cumpliendo estrictamente con las buenas prácticas de laboratorio. Para los análisis fisicoquímicos, el pH y la conductividad eléctrica (EC) se determinaron según la NOM-021-SEMARNAT-2000 y NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004, respectivamente, utilizando potenciómetros y conductímetros calibrados; el contenido de humedad se evaluó mediante secado en horno (NMX-AA-034-SCFI-2001), mientras que la densidad aparente y real se midieron por el método del cilindro y un picnómetro. Los análisis químicos incluyeron nitrógeno total (método Kjeldahl), fósforo (espectrofotometría

UV-Vis), y potasio (fotometría de flama), siguiendo la NOM-021-SEMARNAT-2000; además, el carbono orgánico se determinó por el método Walkley-Black, calculándose la materia orgánica a partir de este resultado. Las propiedades físicas como la textura se evaluaron por el método de Bouyoucos (hidrómetro), y el color se identificó con la escala Munsell. Para la detección de metales pesados como arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio y plomo, se empleó la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 mediante digestión ácida y posterior cuantificación por espectroscopía de absorción atómica. Estos procedimientos garantizan la precisión y confiabilidad de los datos obtenidos, fundamentales para caracterizar el impacto de los lixiviados en el suelo.

Tabla 6. Metodologías requeridas para análisis de parámetros.

Determinaciones	Método
pH	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-02, página 12.
Conductividad eléctrica	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-18, página 39.
Contenido de humedad	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-05, página 16.
Densidad aparente	NOM-021-RECNAT-2000 Método de la parafina AS-03, página 13.
Densidad real	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-04 con picnómetro, página 14.
Nitrógeno total	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-25 Kjeldahl.
Fósforo	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-10, Olsen y colaboradores página 23.
Potasio	Protocolo de inflamometría JENWAY P05-001A
Carbono orgánico	Método de calcinación USDA, USCC. 2001
Materia Orgánica	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-07, por Walkley y Black página 18
Textura	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-09 Bouyoucos, página 21
Color Munsell	Tabla de Munsell
Arsénico	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-14. Extracción con DTPA
Cadmio	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-14. Extracción con DTPA
Cobre	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-14. Extracción con DTPA
Cromo	PR-5-94 Procedimiento para la determinación de metales y otras matrices mediante ICP-MS y AA-flama.
Mercurio	NOM-021-RECNAT-2000 Método AS-14. Extracción con DTPA

4.4 Identificación, aislamiento y selección de cepas bacterianas capaces de resistir transformar y/o volatilizar los contaminantes seleccionados.

4.4.1. Extracción y secuenciación de ADN en suelo contaminado y no contaminado

Inicialmente, se tomaron muestras de 0.5 gramos de suelos contaminado con lixiviado y suelo no contaminado para la extracción de ADN utilizando el Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep Kit de Zymo Research, siguiendo las instrucciones del fabricante. Este kit está diseñado para la rápida obtención de ADN libre de inhibidores y apto para PCR a partir de diversos tipos de suelo. Sin embargo, la electroforesis en gel de agarosa reveló que el rendimiento de ADN obtenido fue insuficiente para aplicaciones posteriores, como se muestra en la Figura 6.

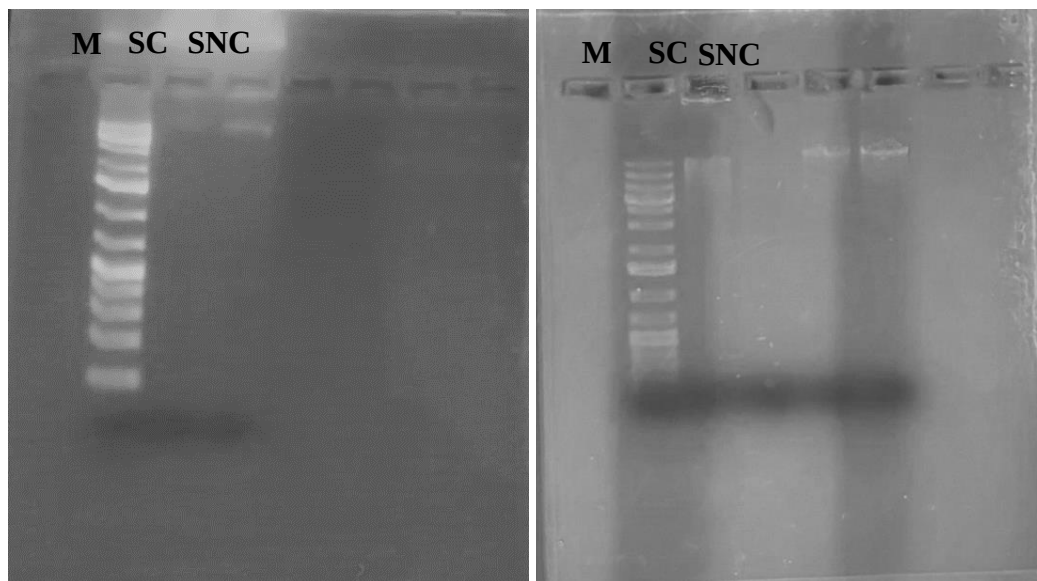


Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa de extracción de ADN directamente del suelo

M: Marcador; SC: Suelo contaminado; SNC: Suelo no contaminado

Para aumentar la cantidad de ADN, se implementó una estrategia alternativa. Se pesaron nuevamente 0.5 gramos de cada tipo de suelo y se realizaron diluciones seriadas decimales desde 10^{-1} hasta 10^{-6} . Cada dilución se preparó añadiendo 1 mililitro de la muestra a 9 mililitros de diluyente estéril, mezclando completamente y repitiendo el proceso

secuencialmente para alcanzar las diluciones deseadas. Posteriormente, se inocularon alícuotas de cada dilución en placas de agar TSA (Tryptic Soy Agar) por triplicado, utilizando la técnica de extensión en placa con un asa de vidrio estéril para distribuir uniformemente el inóculo sobre la superficie del agar bajo condiciones asépticas. Las placas inoculadas se incubaron a 37 °C durante 20 horas para promover el crecimiento bacteriano. Tras la incubación, se evaluó el crecimiento bacteriano y se seleccionaron las placas correspondientes a la dilución 10^{-3} , que presentaban un número adecuado de colonias para su recolección. Las colonias de estas placas se rasparon cuidadosamente y se sometieron a una nueva extracción de ADN utilizando el mismo kit de Zymo Research, siguiendo estrictamente el protocolo del fabricante. La electroforesis en gel de agarosa del ADN extraído confirmó que la cantidad obtenida era suficiente para su secuenciación como muestra la figura 7.

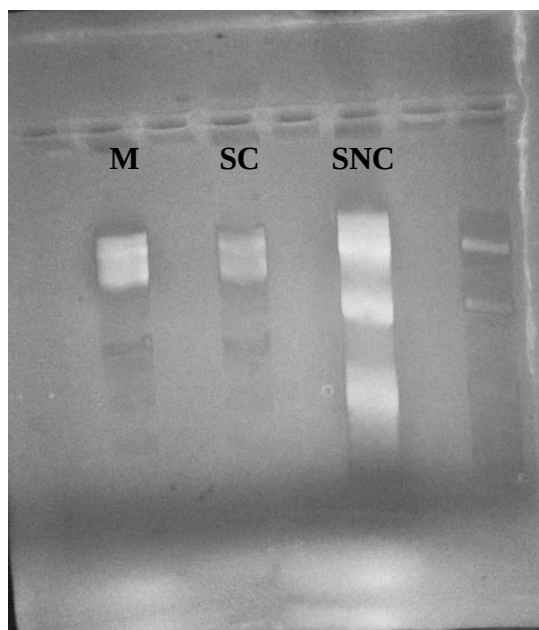


Figura 7. Electroforesis de bacterias obtenidas de la siembra de caja Petri
M: Marcador; SC: Suelo contaminado; SNC: Suelo no contaminado

Este enfoque permitió la obtención exitosa de ADN microbiano en cantidades adecuadas a partir del suelo contaminado y no contaminado, facilitando análisis posteriores para investigar las comunidades microbianas y evaluar el impacto de la contaminación por lixiviados en la microbiota del suelo. El ADN metagenómico se preparó para su envío, utilizando el servicio de secuenciación metagenómica de ZymoBIOMICS en San Diego,

CA, EE. UU. Utilizando la plataforma NovaSeq® 6000 de Illumina que es reconocida por su capacidad para proporcionar un rendimiento de secuenciación de alta calidad y flexibilidad, adecuada para una amplia gama de aplicaciones genómicas.

4.4.2. Análisis bioinformático

Para el análisis bioinformático, las lecturas de secuenciación crudas se procesaron para eliminar aquellas de baja calidad, aplicando un umbral de calidad de 20 y descartando las de longitud inferior a 70 pares de bases, utilizando la herramienta Trimmomatic-0.33. Los archivos de lecturas resultantes en formato FASTQ se cargaron en la plataforma CZ-ID, que permite la identificación y cuantificación de patógenos bacterianos mediante la determinación de la composición microbiana y la resistencia a antimicrobianos. Para cada muestra de suelo contaminado y no contaminado, se estableció la composición microbiana significativa basándose en lecturas únicas por millón (rPM) correspondientes a taxones microbianos específicos, aplicando los siguientes filtros: Puntaje Z del nucleótido (NT) ≥ 1 , calculado a partir de un modelo de fondo normalizado por masa. NT rPM ≥ 10 , es decir, un mínimo de 10 lecturas por cada millón que se asignen a un taxón específico, NR rPM ≥ 5 , correspondiente a lecturas de proteínas no redundantes por millón asignadas a un taxón específico. Alineamiento promedio de NT ≥ 50 pares de bases.

Adicionalmente, se emplearon herramientas del Centro de Recursos de Bioinformática Bacteriana y Viral (BV-BRC) para identificar la composición microbiana, bases de datos de resistencia a antimicrobianos y factores de virulencia, así como la composición de familias, géneros y especies bacterianas en cada muestra de suelo, contaminado y no contaminado.

4.4.3. Preparación del medio de cultivo a diferentes concentraciones de NaCl

Para evaluar el impacto del crecimiento bacteriano, se realizó la experimentación a diferentes concentraciones de NaCl tipo reactivo, estas concentraciones se definieron debido a que la salinidad del suelo contaminado contiene 19.705 mS/cm, es decir:

$$\text{Si } 16 \text{ mS/cm} = 1\% \text{ NaCl}$$

$$\text{Entonces } 19.705 \frac{\text{mS}}{\text{cm}} \approx \frac{19.705 \frac{\text{mS}}{\text{cm}}}{16 \frac{\text{mS}}{\text{cm}}} \times 1\% = 1.23\% \text{ de NaCl}$$

Aunque la salinidad del suelo contaminado equivale a 1.23 % de NaCl, se analizaron a

diferentes concentraciones para conocer la resistencia de las bacterias obtenidas, el cual se muestra en la siguiente tabla 7, el objetivo de cada análisis de concentración realizada.

Tabla 7. Objetivo de diferentes concentraciones de NaCl del medio de cultivo.

Concentración NaCl (%)	Objetivo de análisis
0.5	Concentración baja para observar el comportamiento de las bacterias en condiciones mínimas de salinidad.
1	Similar a la concentración natural de salinidad de suelos no contaminados.
1.5	Ligeramente por encima del suelo contaminado, para evaluar si las bacterias pueden soportar condiciones más adversas.
2	Un incremento que ayudará a identificar bacterias capaces de resistir niveles altos de salinidad.
3	Mayor nivel de salinidad que simula condiciones extremas, para detectar bacterias altamente halotolerantes.
5	Para evaluar bacterias extremadamente resistentes, que podrían ser útiles en casos de salinidad más elevada en el futuro.
10	Concentración que pone a prueba las bacterias halófilas extremas, que suelen encontrarse en ambientes muy salinos.

El porcentaje en masa de NaCl (g) indica cuantos gramos de soluto se encuentra por cada 100 g de la solución, que está dada por la siguiente formula:

$$\% \text{ masa (g)} = \frac{g \text{ del soluto}}{g \text{ de la solución}} \times 100\%$$

Con la formula anterior se definieron los gramos de NaCl utilizada para cada experimentación, siguiendo el protocolo de preparación del agar y agregando la cantidad de NaCl para cada experimento.

Se preparó medios de cultivo TSA (por sus siglas en inglés, Tryptic Soy Agar), ajustando su pH a 7.45 simulando el pH del suelo contaminado. Se utilizó al agar de la marca MCD Lab, catalogo 7171, según las instrucciones del producto, donde se debían suspender 40 g del medio en cada litro de agua destilada, calentando con agitación suave para una completa dilución hasta su ebullición para después esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos, se dejó enfriar hasta llegar a una temperatura aproximada de 50°C y se vaciaron en cada caja Petri estéril. El volumen total a utilizar para el experimento fue de 150 ml, tomando en cuenta que en cada caja Petri se ocuparían 25 mL y se realizarían a 3 concentraciones de dilución diferentes y cada uno sería por duplicado, quedando como indica la figura 8.

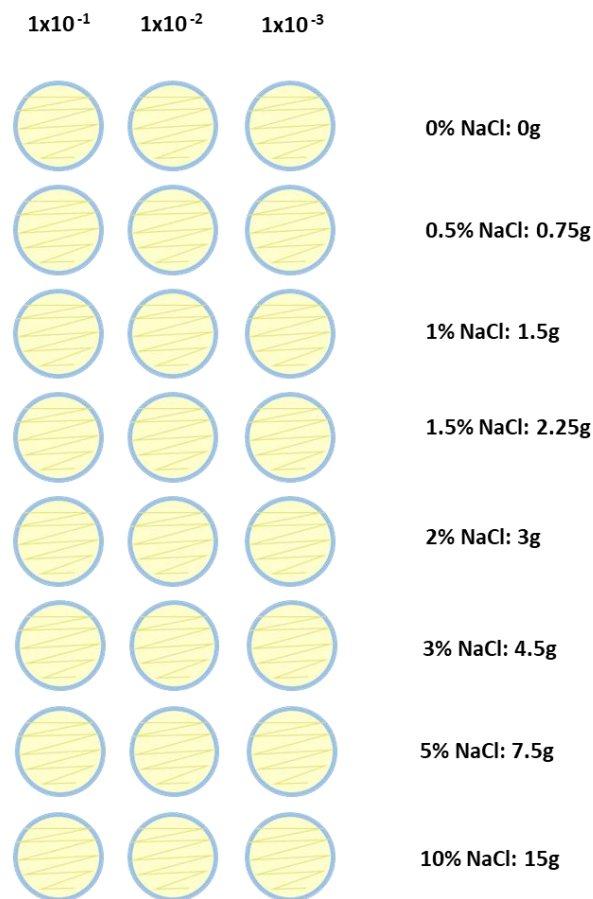


Figura 8. Representación de la experimentación de medios de cultivo TSA a diferentes concentraciones de NaCl

4.4.3.1. Preparación de la muestra de suelo

Una vez que las cajas Petri contenían en agar solidificado, se procedió a realizar la preparación de la muestra de suelo contaminado. Pesando 0.5 g de suelo contaminado en

una balanza analítica con material estéril para evitar contaminación cruzada. La muestra fue transferida a un vaso de precipitado esterilizado y se añadió 10 ml de solución salina estéril a 0.85% y mezclar vigorosamente durante 3 minutos para asegurar la homogeneización, asegurando que las bacterias se hayan desprendido del suelo y se distribuyan en el líquido. Una vez homogeneizado, se tomaron 3 tubos de ensayo estériles y se procedió a llenar 9 ml de solución salina estéril en cada uno de ellos. Del primer tubo que contenía el suelo homogeneizado se tomó 1 ml de la muestra y se colocó en el primer tubo debidamente etiquetado, siendo 10^{-1} el de mayor concentración y 10^{-3} el de menor concentración de la dilución seriada. Del segundo tubo se tomó 1 ml y se transfirió al segundo tubo y así sucesivamente, tal cual se muestra en la figura 9, se rotuló cada caja Petri y se procedió a sembrar cada tubo en cada una de las cajas Petri a diferentes concentraciones.

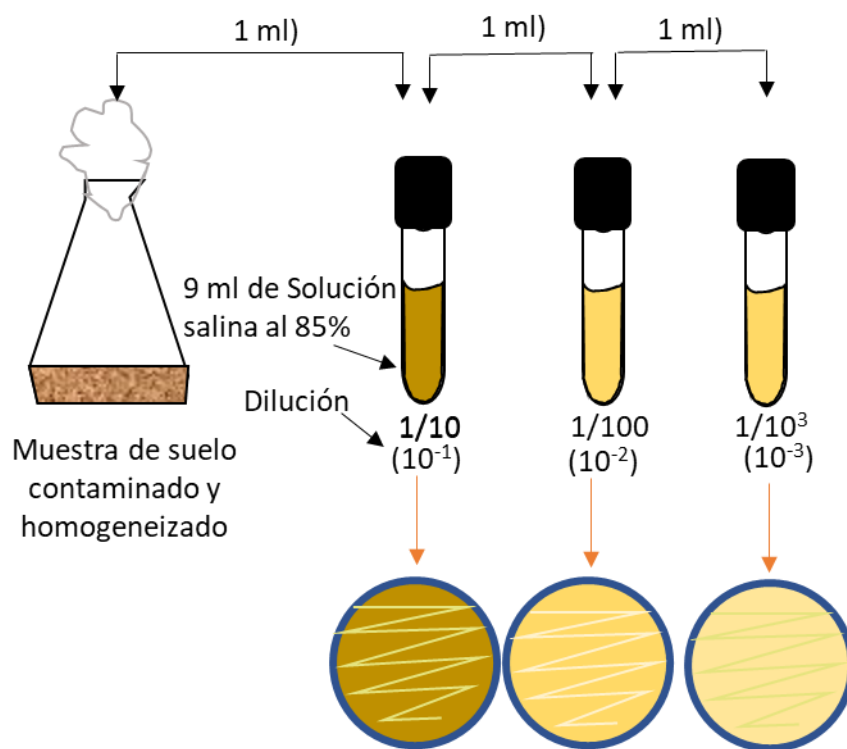


Figura 9. Ilustración de dilución seriada de la muestra de suelo.

Finalmente se colocaron todas las cajas Petri en la incubadora a una temperatura entre 30°C a 37°C , durante 24 horas, monitoreando el crecimiento de las bacterias y finalmente contando las Unidades Formadoras de Colonia en cada una de las cajas y se caracterizaron morfológicamente las colonias obtenidas.

4.4.4 Aislamiento y selección de bacterias halófilas a diferentes concentraciones de NaCl

Para este punto se estudió cada colonia de bacterias obtenidas en cada caja Petri y las seleccionadas de acuerdo a sus resistencia y abundancia se procedió a resembrar. Para este procedimiento se utilizaron cajas Petri con 3 divisiones, con el mismo tipo de agar y el mismo procedimiento que la sección anterior, pero esta vez sin NaCl, para conocer y evaluar la naturaleza de las bacterias sin estrés y reactivarlas. Se tomaron las placas o cajas Petri previamente seleccionadas que contenían las colonias de bacterias a aislar. Con un asa bacteriológica estéril se tocó la superficie de la colonia de bacterias a aislar, recogiendo parte de la colonia y se inoculó en la caja Petri con tres divisiones, teniendo cuidado que en cada siembra el asa estuviera estéril para evitar contaminación cruzada. Finalmente se incubaron a 37°C y se observó el crecimiento durante 24 horas, de acuerdo a su forma, color, elevación, relieve, abundancia y rapidez de crecimiento. Una vez se seleccionaron las bacterias se realizó un subcultivo en nuevas cajas Petri con medio TSA sin NaCl utilizando el mismo procedimiento con el fin de mantener activas las bacterias y garantizar un cultivo puro para los siguientes pasos experimentales. Las bacterias seleccionadas y purificadas se almacenaron en las cajas Petri, debidamente selladas a 4°C, mientras se preparaba la siguiente experimentación.

4.4.5. Bacterias seleccionadas sometidas a estrés con HgCl₂

En este proceso se realizó el aislamiento de bacterias halófilas seleccionadas previamente por su resistencia y abundancia en medios con diferentes concentraciones de NaCl, sometiéndolas a estrés a diferentes concentraciones de HgCl₂, utilizando TSA sin NaCl.

De acuerdo a estudios realizados se tomaron en cuenta tres concentraciones diferentes de HgCl₂, el cual se detallan los cálculos a continuación.

$$Masa (mg) = \frac{Concentración (\mu g/ml) * Volumen (ml)}{1000}$$

PARA 50μG/ML:

$$Masa = \frac{50\mu g/ml \times 50ml}{1000} = 2.5 mg$$

Es decir, se pesó 2.5 mg (0.0025g) de HgCl_2 en una balanza analítica, se disolvió en un matraz aforado de 50 ml.

PARA 100 $\mu\text{G}/\text{ML}$:

$$\text{Masa} = \frac{100\mu\text{g}/\text{ml} \times 50\text{ml}}{1000} = 5\text{ mg}$$

PARA 200 $\mu\text{G}/\text{ML}$:

$$\text{Masa} = \frac{200\mu\text{g}/\text{ml} \times 50\text{ml}}{1000} = 10\text{ mg}$$

Para llevar a cabo este procedimiento es importante resaltar que el HgCl_2 , es altamente tóxico y cancerígeno y fue necesario trabajar con guantes, bata, lentes de seguridad y campana de extracción. Una vez realizada la solución se etiquetaron y se colocaron en frascos de vidrio color ámbar para evitar degradación y se almacenaron en gabinete con extracción.

Una vez realizadas las soluciones a diferentes concentraciones de HgCl_2 , se procedió a la preparación del medio de cultivo TSA sin NaCl, de acuerdo a las instrucciones del fabricante, el cuál fue mencionada en la sección anterior y se tomaron en cuenta los siguientes cálculos para adicionar cada solución de HgCl_2 en los agares. Cada solución fue agregada después de haber esterilizado y enfriado el TSA o medio de cultivo.

Para preparar agar TSA con una concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, se añadió 100 μL de la solución HgCl_2 de concentración 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en 100 ml del agar TSA previamente esterilizado y enfriado. Es decir, para 475 ml de agar se requieren 475 μL de la solución madre. Para prepara agar con una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$, se necesita añadir 100 μL de la solución HgCl_2 de concentración 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en 100 ml del agar TSA previamente esterilizado y enfriado, de la misma manera la concentración obtenida para 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Una vez habiendo suplementado el medio de cultivo con HgCl_2 , con las concentraciones correspondiente, se procedió a homogeneizar y a vaciarlas en las cajas Petri, previamente

etiquetadas con las concentraciones debidas. Es importante comentar que este procedimiento se realizó por triplicado para confiabilidad de resultados. La siembra en rayado de las bacterias previamente aisladas fueron sembradas con un asa bacteriológica en cada una de las cajas Petri, teniendo el cuidado de evitar contaminación cruzada y dentro de una campana de flujo laminar, se incubaron las cajas Petri monitoreando el crecimiento durante 18 horas a 37°C y se realizaron los estudios morfológicos para asegurar el correcto aislamiento en cada cepa bacteriana.

4.4.5.1. Evaluación del estrés y selección de bacterias resistentes a HgCl₂

Las bacterias que lograron crecer entre 8 y 10 horas de manera abundante y manteniendo un crecimiento activo en las tres concentraciones diferentes de HgCl₂, mostraban mayor resistencia al estrés sometido siendo capaces de demostrar un alto potencial para la biorremediación de mercurio y otros metales pesados.

4.4.6. Reactivación de bacterias seleccionadas para biorremediación de metales pesados en caldo TSA.

Para transferir las bacterias previamente aisladas y seleccionadas por su resistencia al mercurio se empleó un asa bacteriológica estéril como se muestra en la figura 10. El procedimiento consistió en raspar suavemente cada colonia bacteriana con el asa, previamente esterilizada al rojo vivo en la llama de un mechero alcohol y enfriada antes de su uso. Tras la recolección, el inóculo se liberó en el caldo TSA mediante agitación del asa en el medio líquido, asegurando la transferencia efectiva de la biomasa bacteriana. Estas fueron transferidas asépticamente a un tubo que contenía 50 ml de caldo TSA. Los cultivos líquidos se incubaron a 37°C durante 8 horas, asegurando que las bacterias alcanzaran la fase exponencial del crecimiento. Mantener las bacterias en la fase exponencial era esencial, ya que en esta etapa exhiben máxima actividad metabólica y alta tasa de división celular, lo que favorece procesos como la biorremediación. Durante esta fase, las bacterias presentan una mayor capacidad para metabolizar y detoxificar contaminantes, incluyendo metales pesados como el mercurio. Además, la resiembra en caldo TSA proporcionó un ambiente nutritivo óptimo que promovía el crecimiento vigoroso de las bacterias,

asegurando una población activa y robusta para su aplicación en la biorremediación de suelos contaminados.

Este procedimiento incrementaba la probabilidad de éxito en la biorremediación, ya que una población bacteriana en fase exponencial suele adaptarse más eficientemente a las condiciones ambientales del suelo contaminado, acelerando la degradación y eliminación del mercurio presente. La utilización de bacterias resistentes al mercurio, mantenidas en condiciones óptimas de crecimiento, es una estrategia efectiva para mejorar la eficiencia de los procesos de biorremediación en suelos afectados por este metal pesado.

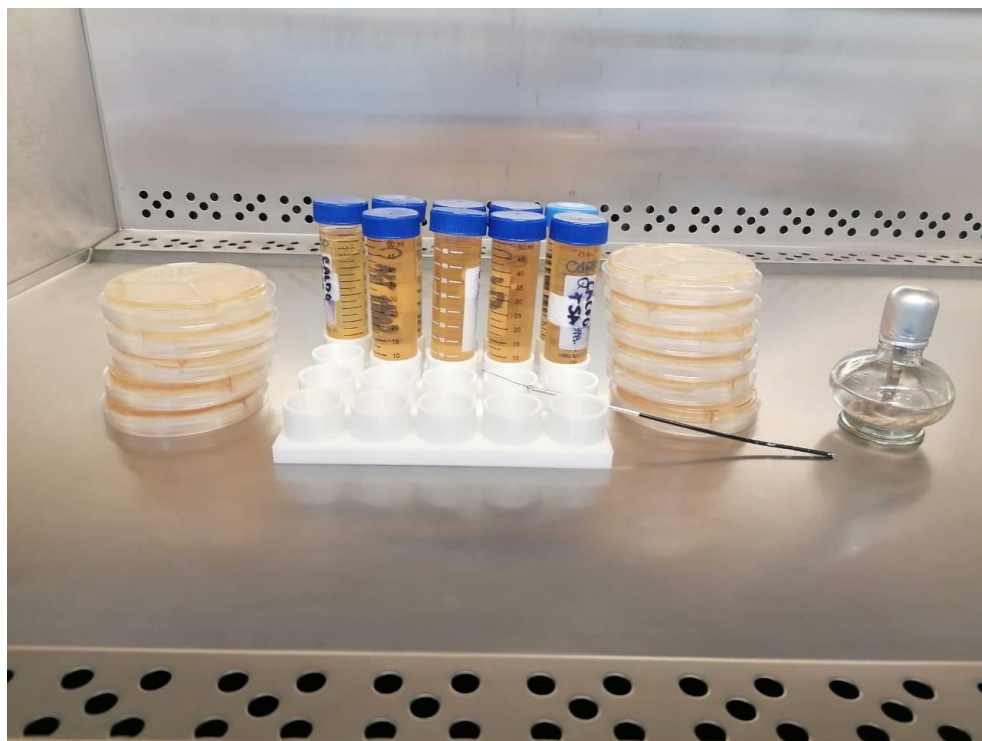


Figura 10. Cajas Petri con bacterias previamente aisladas y seleccionadas por su resistencia al HgCl_2

4.4.7. Preparación del inóculo para aplicación en suelo contaminado y suelos experimentales.

La transferencia de biomasa bacteriana cultivada en caldo TSA a una solución salina al 0.85% después de 9 horas de incubación se realizó para detener temporalmente el crecimiento bacteriano y mantener las células en un estado de latencia. Este procedimiento es esencial para asegurar que las bacterias seleccionadas permanezcan viables y listas para

ser inoculadas en suelos contaminados, optimizando así su capacidad de biorremediación.

Al suspender las bacterias en una solución salina isotónica, se evita la lisis celular y se preserva su viabilidad sin promover su proliferación. Este estado de latencia es crucial para sincronizar la actividad metabólica de las bacterias con las condiciones ambientales del suelo contaminado al momento de la inoculación, aumentando la eficacia del proceso de biorremediación. Este enfoque metodológico incrementa la probabilidad de éxito en la biorremediación de suelos, ya que garantiza que las bacterias inoculadas estén en óptimas condiciones fisiológicas para adaptarse y actuar eficazmente en la degradación de contaminantes presentes en el suelo.

Para este procedimiento primeramente se tomaron los 4 tubos Falcon de cultivo bacteriano y se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos, con la finalidad de formar el pellet de bacterias debido a la inercia de la centrifugación. Seguido se drenó el sobrenadante de caldo TSA, teniendo el cuidado de no tirar el pellet bacteriano obtenido. En cada tubo que contenía el pellet, se vaciaron 50 ml de solución salina 0.85%, se homogeneizó y se colocaron nuevamente en la centrifuga de una manera equilibrada a 4000 rpm durante 10 minutos, formando nuevamente pellet bacteriano, esto se realizó 3 veces más con la finalidad de purificar y lavar el pellet bacteriano obtenido. Finalmente se drenó el agua estéril salina a 0.85% de cada tubo con el cuidado de no tirar el pellet obtenido, se vaciaron nuevamente 50 ml de esta solución salina en cada uno de los tubos Falcon y se procedió a realizar la densidad óptica con la ayuda de un espectrofotómetro Uv-Vis de la marca HACH, para asegurar que las bacterias se encontraban en su fase exponencial y asegurar el éxito de la biorremediación. Es importante mencionar que este procedimiento se realizó por duplicado para asegurar la confiabilidad del experimento.

4.5 Determinación del procedimiento para medir la eficiencia de la biorremediación.

Para este procedimiento se llevaron a cabo cuatro experimentos por duplicado, según muestra la figura 11.



Figura 11. Tratamientos experimentales para biorremediación de suelo.

Suelo contaminado con lixiviado e inóculo bacteriano SC(+), esta configuración buscó evaluar la eficacia de las bacterias seleccionadas en la degradación de contaminantes presentes en el suelo afectado, principalmente arsénico y mercurio. La introducción de microorganismos especializados aceleraría la descomposición de sustancias tóxicas, mejorando la calidad del suelo.

Suelo estéril con inóculo bacteriano SE(+), el propósito fue determinar la capacidad de las bacterias para adaptarse y sobrevivir en un entorno sin contaminantes ni competencia

microbiana. Este control positivo permitió observar el comportamiento y crecimiento óptimo de las bacterias en condiciones ideales.

Suelo contaminado con lixiviado sin inóculo SC(-), esta experimentación sirvió como control negativo para evaluar la degradación natural de los contaminantes sin intervención microbiana adicional. Permitted comparar la eficacia de la biorremediación asistida frente a la atenuación natural.

Suelo estéril sin inóculo SE(-), este control negativo verificó la ausencia de factores externos que pudieran influir en los resultados, asegurando que cualquier cambio observado en las otras experimentaciones se debiera exclusivamente a la presencia de contaminantes o bacterias introducidas.

La implementación de estos cuatro tratamientos permitió obtener resultados de una comparación detallada, proporcionando una comprensión integral de la eficacia y adaptabilidad de las bacterias en diversos escenarios de biorremediación.

4.5.1. Determinación de volumen de inóculo y masa del suelo

La investigación se diseñó para evaluar la efectividad de los tratamientos de biorremediación en suelos contaminados con lixiviado utilizando 500 gramos de suelo como masa estándar y 50 ml de inóculo con las bacterias, seleccionando cepas bacterianas específicas que se aislaron previamente. El tratamiento se llevó a cabo durante 30 días, aplicando el inóculo en dos dosis, una al inicio del experimento y otra al día 15. Este protocolo se fundamentó en resultados previos que muestran en la tabla 8, donde se observa que la mayoría de los estudios que se presentan están en relación 1:1 en relación a masa del suelo y volumen del inóculo, respectivamente. También se observa que los resultados fueron satisfactorios en cada una de las experimentaciones, obteniendo la biorremediación de mayor o igual a 50% de remoción del contaminante a biorremediar.

Tabla 8. Comparación de investigaciones, masa de suelo, volumen de inóculo y tiempo de inoculación

Bacteria utilizada	Masa de Suelo (g)	Volumen de inóculo (mL)	Frecuencia de inoculación	Intervalo entre aplicaciones	Tiempo total del experimento	Contaminante a biorremediar	Referencia
--------------------	-------------------	-------------------------	---------------------------	------------------------------	------------------------------	-----------------------------	------------

<i>Pseudomonas putida</i>	500	50	Dos aplicaciones	Cada 10 días	30 días	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs)	[67]
<i>Bacillus cereus</i>	1000	100	Una aplicación	No aplicable	60 días	Cadmio	[68]
<i>Acinetobacter sp.</i>	1500	50	No especifica	No especifica	60 días	NE	[69]
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	1000	100	Una aplicación	No aplicable	91 días	Petróleo	[70]
<i>Shewanella oneidensis</i>	1000	75	Dos aplicaciones	Cada 15 días	30 días	Arsénico	[71]

El enfoque experimental consistió en preparar cuatro suelos experimentales como se mencionó con anterioridad e inocular 50 ml de solución bacteriana al inicio a dos de los experimentos y 50 ml de agua estéril a los experimentos que no tendrían inóculo para mantener las mismas condiciones de humedad y conocer los resultados en cada uno de ellos y repetir la dosis a los 15 días como se muestra en la figura 12. Durante el periodo experimental, se monitorearon parámetros clave, como la concentración de mercurio y arsénico, pH, Conductividad eléctrica, Nitrógeno, Fosforo, Temperatura y humedad, así como el crecimiento bacteriano, realizando pruebas de siembra de los diferentes suelos experimentales en agares en caja Petri. [72] lograron una reducción del 70% en hidrocarburos aromáticos policíclicos bajo un esquema comparable.

Este diseño metodológico aseguró la repetibilidad y comparabilidad con investigaciones previas, al mismo tiempo que se adapta a las condiciones específicas del suelo estudiado y contaminantes tratados. Además, permitió minimizar la duración del tratamiento sin comprometer la eficacia.



Figura 12. Ilustración de suelos experimentales.

4.5.2. Inoculación de tratamientos

Para llevar a cabo la inoculación en el suelo se prepararon cuatro tratamientos experimentales como se ha mencionado con anterioridad.

Suelo contaminado con lixiviado e inóculo bacteriano, se aplicaron 50 mL de inóculo bacteriano al suelo contaminado con lixiviado.

Suelo estéril con inóculo bacteriano, se esterilizó el suelo y se le añadieron 50 mL del mismo inóculo bacteriano, que se tenía previamente en los tubos Falcón.

Suelo contaminado con lixiviado sin inóculo bacteriano, Se incorporaron 50 mL de agua estéril al suelo contaminado, manteniendo las condiciones de humedad y temperatura similares a los tratamientos con inóculo.

Suelo estéril sin inóculo bacteriano, Se añadieron 50 mL de agua estéril al suelo estéril, asegurando condiciones homogéneas en todos los tratamientos.

La inoculación se realizó distribuyendo uniformemente los 50 mL de inóculo bacteriano o agua estéril sobre la superficie del suelo correspondiente a cada tratamiento. Posteriormente, se mezcló cuidadosamente el suelo para garantizar una distribución homogénea del líquido añadido. Este procedimiento se llevó a cabo bajo condiciones estériles y dentro de una campana de flujo laminar para evitar contaminaciones externas y los tratamientos se mantuvieron en condiciones controladas a una temperatura entre 34 a 37°C.

La adición de 50 mL de agua estéril en los tratamientos sin inóculo bacteriano tuvo como

objetivo mantener condiciones de humedad y temperatura similares a las de los tratamientos inoculados. Mantener una humedad adecuada en el suelo es crucial para el desarrollo óptimo de los microorganismos involucrados en la biorremediación, ya que facilita el transporte de nutrientes y oxígeno necesarios para su actividad metabólica

Este enfoque metodológico asegura que las diferencias observadas en la eficacia de la biorremediación entre los tratamientos puedan atribuirse principalmente a la presencia o ausencia del inóculo bacteriano, eliminando variables como la humedad y la temperatura que podrían influir en los resultados.

4.5.3. Determinación de la capacidad de biorremediación de las cepas bacterianas seleccionadas en cada tratamiento.

La determinación de la capacidad de biorremediación de las cepas bacterianas seleccionadas implicó mediciones diarias de nitrógeno, fósforo, potasio, pH, conductividad eléctrica, humedad y temperatura del suelo. Estas mediciones fueron fundamentales para monitorear y optimizar las condiciones ambientales que influyeron en la actividad microbiana y la eficacia del proceso de biorremediación. Parámetros como el pH y la conductividad eléctrica proporcionaron información sobre las características principales del suelo, permitiendo ajustes necesarios para mantener un ambiente óptimo para las bacterias involucradas en la remediación. Además, la disponibilidad de nutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio fue crucial para el crecimiento y actividad de las bacterias, ya que su presencia en cantidades adecuadas se logra acelerar la degradación de contaminantes.

Adicionalmente, se realizaron mediciones semanales de arsénico y mercurio en el suelo. Estas mediciones permitieron evaluar la eficacia de las bacterias en la remoción de estos metales pesados, asegurando que los niveles de contaminación disminuyeran progresivamente durante el proceso de biorremediación. La cuantificación precisa de estos metales fue esencial para determinar el éxito del tratamiento.

Para asegurar la validez de los resultados y descartar posibles contaminaciones cruzadas, se llevaron a cabo análisis microbiológicos periódicos en cada suelo experimental. Este control fue vital para confirmar que las cepas bacterianas inoculadas eran las responsables de la biorremediación observada. Con la implementación de estas medidas de control

aumentaría la confiabilidad de los resultados y proporcionaría una base sólida para evaluar la eficacia del proceso de biorremediación.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentan y discuten los resultados obtenidos en cada uno de las metodologías mencionadas en la sección anterior. Así mismo se muestran los resultados finales del estudio de la capacidad de biorremediación de las bacterias seleccionadas.

5.1 Los metales pesados, principales contaminantes del suelo a nivel mundial.

La revisión sistemática realizada se publicó en marzo del 2023, basada en estudios realizados entre 2017 a enero del 2023, identifica los principales contaminantes que afectan los suelos a nivel global, específicamente los derivados de lixiviados de rellenos sanitarios. Estos contaminantes se clasifican en metales pesados, hidrocarburos, plásticos/polímeros y materia orgánica, como lo muestra la tabla 9.

Tabla 9. Principales contaminantes estudiados a nivel internacional.

Año	País	Tipo de suelo	Contaminante	Referencia
2017	Bulgaria	Suelo de vertedero	Metano	[73]
2017	China	Suelo de agricultura	Di-(2-etilhexil)ftalato (DEHP)	[74]
2017	India	Suelo municipal	Cr y Cd	[75]
2017	Malasia	Suelo de vertedero	NH(3)-N	[76]
2017	Malasia	Suelo de vertedero	Al, Cu, Cd, Mn y Pb	[77]
2017	Malasia	Suelo de vertedero	Al, Cd, Cr, Fe, Ni, Pb y Zn	[78]
2017	Malasia	Suelo de vertedero	Pb, Al y Mn	[79]
2017	Malasia	Suelo municipal	Pb, Al y Cu	[80]
2017	Malasia	Suelo de vertedero	Pb, As, Mn, Ni, y Cr	[81]
2017	España	No especificado	Cu, Zn, Ni, Pb y Cd	[82]
2018	China	Suelo de vertedero	Cloruro cálcico y urea	[83]
2018	China	Suelo de vertedero	Petróleo	[84]
2018	India	Suelo de vertedero	Fe, Mn, Zn, y Cu	[85]
2018	India	Suelo de vertedero	Polihidroxibutirato	[86]
2018	India	Suelo de vertedero	Ni, Cd y Cr	[87]
2018	India	No especificado	Selenio	[88]
2018	Irlanda	Suelo de vertedero	Amoníaco	[89]

2018	Italia	Suelo de agricultura	Oligoelementos y compuestos orgánicos	[90]
2018	Italia	Suelo natural	Hidrocarburos	[91]
2018	Malasia	Suelo de vertedero	Mg, Al, Si, Cr, Mn, Cu, Ni, Co, Zn, As, Ag, Cd, Hg, Pb,	[56]
2018	Pakistan	Suelo industrial	Cr y As	[92]
2018	Filipinas	Suelo de vertedero	Plata	[55]
2018	Romania	Suelo industrial	Hidrocarburos	[93]
2018	Sri Lanka	Suelo de vertedero	Fe, Mn, Cu, Ni, Cd, Zn, y Pb.	[94]
2018	Ucrania	Suelo de vertedero	As y Hg	[54]
2019	Australia	Suelo de vertedero	Hidrocarburos policíclicos aromáticos	[8]
2019	Brasil	Suelo de vertedero	Polietileno	[95]
2019	China	Suelo de vertedero	Cr, Ni, Pb, Mn, Cu, Zn, y Cd	[57]
2019	China	Suelo de vertedero	Ftalato de dietilo (DEP)	[96]
2019	China	Suelo industrial	Hidrocarburos policíclicos aromáticos	[97]
2019	China	No especificado	Sustancias alquiladas perfluoradas y polifluoradas (PFAS) y plomo y antimonio	[98]
2019	China	Suelo de vertedero	Amoni	[99]
2019	China	Suelo de vertedero	1-naftol	[100]
2019	India	Suelo industrial (textil)	Eliminación del color	[101]
2019	India	Suelo de vertedero	Pireno	[102]
2019	México	Suelo natural	poliacrílico y poliéster poliuretano	[103]
2019	Nigeria	Suelo de vertedero	Cu y Pb	[104]
2019	Eslovaquia	No especificado	Zn	[105]
2019	Suiza	Suelo de vertedero	As, Mn, Cu, Cr, Fe	[58]
2019	Estados Unidos	Suelo natural	<i>Escherichia coli</i> y <i>Rhodococcus erythropolis</i>	[106]
2020	Canadá	Suelo de vertedero	Na y Cl	[107]
2020	China	Suelo de vertedero	Materia orgánica en partículas (POM)	[108]

2020	China	Suelo de vertedero	H(2)S, NH(3) y Compuestos orgánicos volátiles (COV)	[109]
2020	China	Suelo natural	Pb, Cr, Cd, Cu, Mn, y Zn	[62]
2020	China	Suelo natural	Polietileno (PE), poliestireno (PS), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC), poliuretano (PUR) y tereftalato de polietileno (PET)	[110]
2020	China	Suelo de vertedero	Compuestos orgánicos volátiles (COV)	[111]
2020	Egipto	Suelo de vertedero	Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn	[112]
2020	India	Suelo industrial	Hidrocarburos	[113]
2020	India	Suelo de vertedero	Pireno	[114]
2020	Irán	Suelo de vertedero	Cobre	[115]
2020	Malasia	Suelo de vertedero	Fe, Cu y Cr	[61]
2020	Malasia	Suelo municipal	Di-(2-etilhexil)	[116]
2020	Malasia	Suelo de vertedero	Ni, Pb, y Zn	[7]
2020	Malasia	Suelo de vertedero	Pireno y cadmio	[117]
2020	México	Suelo de minas	As, Pb, Cu, Mn y Fe	[118]
2020	Marruecos	No especificado	Contaminantes orgánicos	[119]
2020	Nigeria	Suelo industrial	Hidrocarburos aromáticos policíclicos [HAP], pesticidas, productos derivados del petróleo, compuestos orgánicos volátiles [COV], disolventes orgánicos, metales pesados (no especificados)	[120]
2020	Polonia	Suelo de cultivo	Polilactida (PLA) y tereftalato de polietileno (PET)	[121]
2020	Polonia	Suelo mezclado	Bifenilos policlorados (PCB) e hidrocarburos de petróleo (HTP)	[122]
2021	Bangladesh	Suelo industrial	Diesel	[60]
2021	China	Suelo natural	Hidrocarburos	[123]
2021	China	No especificado	Di-(2-etilhexil) ftalato (DEHP)	[124]

2021	India	Suelo de vertedero	polietileno (PE), tereftalato de polietileno (PET) y poliestireno (PS)	[125]
2021	India	Suelo municipal	Metano	[126]
2021	India	Suelo municipal	Éter difenílico decabromado	[127]
2021	Indonesia	Suelo de vertedero	Hg, Cd, Pb, Mg, Zn, Fe, Mn, y Cu	[128]
2021	Irán	Suelo de vertedero	Polietileno de baja densidad	[129]
2021	Italia	Suelo de vertedero	Polietileno de baja densidad	[130]
2021	Nigeria	Suelo de vertedero	Cd y Pb	[59]
2021	Perú	Suelo de agricultura	Pb	[131]
2021	Eslovaquia	Suelo artificial	Pb, Zn, Cu, Ni	[63]
2021	España	Suelo de vertedero	Cd; Ni, Pb; Cr y benzo(a)pireno	[132]
2021	Taiwán	Suelo de océano	Cd	[133]
2021	Taiwán	No especificado	Hidrocarburos	[134]
2022	Canadá	Suelo de agricultura	Pesticidas	[135]
2022	China	Suelo natural	Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP)	[136]
2022	Alemania	Suelo de vertedero	Ftalato de di-butilo	[137]
2022	India	Suelo municipal	Cd	[138]
2022	India	Suelo de vertedero	Polietileno de baja densidad (LDPE)	[139]
2022	Italia	Suelo de vertedero	Polietileno, cloruro de polivinilo y tereftalato de polietileno	[140]
2022	Corea	Suelo de vertedero	Petróleo e hidrocarburos	[141]
2022	Malasia	Suelo de vertedero	As, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, y Zn	[64]
2022	Malasia	Suelo de vertedero	Pb, Cu, As, Mn, Cr, Zn, Fe, y Ni	[142]
2022	México	Suelo de vertedero	Compuestos fenólicos y ftalatos	[143]
2022	México	Suelo de minas	As	[144]
2022	Paquistán	Suelo natural	Pb, Cu, Zn, Fe, Cr.	[76]
2022	España	Suelo de jardinería	Pb	[66]
2023	India	Suelo de vertedero	Cd, Pb, Ni, y Cr	[145]

En este estudio, la prevalencia de contaminantes objetivo para la biorremediación fue

del 53% para los metales pesados. Esto coincide con varios autores [59], [146], [147], [148], [149], [150], [151]. Aunque el tipo de metales pesados seleccionados para la biorremediación y las técnicas utilizadas en cada estudio varían, es un hecho que los metales pesados son el contaminante que más preocupa en todo el mundo. En segundo lugar, con un 26% de los casos de biorremediación de suelos contaminados con lixiviados estudiados, se encuentran los hidrocarburos. Aunque se trata de un tema ampliamente estudiado, los casos de contaminación por hidrocarburos que aquí se presentan se limitan a la contaminación por lixiviados, tanto en vertederos como en suelos municipales, el problema es amplio y abarca desde el petróleo, metano, hidrocarburos aromáticos, hasta el pireno, cada uno tratado con diferentes microorganismos, diferentes técnicas y suelos específicos. Los plásticos o polímeros se presentan en el 13% de los casos estudiados en esta revisión sistemática. Se sabe que se producen más de 300 millones de toneladas de plásticos en el mundo anualmente [152], [153]. Actualmente, la biorremediación de este tipo de contaminantes es de gran importancia, ya que se han descubierto diversos microorganismos capaces de biodegradar plásticos de diferentes clasificaciones, como polietileno (PE), tereftalato de polietileno (PET) y poliestireno (PS), polietileno de baja densidad, así como compuestos utilizados para su conservación. Por ejemplo, el ftalato de dibutilo, también conocido como DBP, es un compuesto orgánico utilizado en la industria como plastificante, pero también como aditivo en adhesivos, tintas de impresión y productos cosméticos [137]. Otro compuesto de este grupo, el ftalato de dietilo (DEP), es un líquido incoloro con un desagradable sabor amargo. Este compuesto sintético se utiliza habitualmente para añadir flexibilidad a los plásticos. Se utiliza en productos como cepillos de dientes, piezas de automóviles, herramientas, juguetes y envases de alimentos [96]. Por último, el 8% de los casos de estudio son sustancias orgánicas muy diversas en la naturaleza y cuya presencia en los suelos se debe a actividades humanas muy diversas como la agricultura, la industria, el transporte, etc como se muestra en la figura 13. La causa más común de los contaminantes universales es la agricultura, ya que se utilizan para controlar parásitos y enfermedades de las plantas, para proteger los cultivos de influencias nocivas, aunque no sean parásitos, y para mejorar la calidad y cantidad de la producción, como pesticidas, herbicidas y fertilizantes [154].

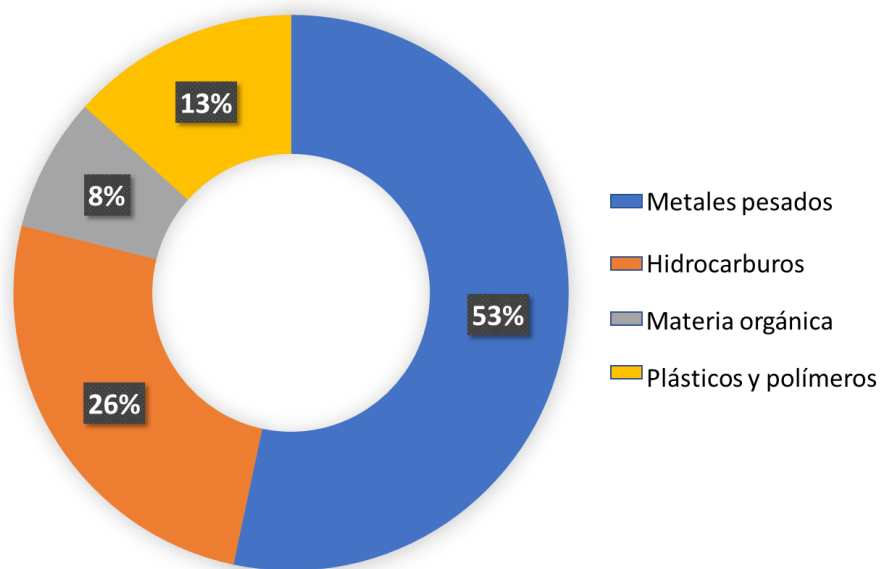


Figura 13. Porcentajes de principales contaminantes estudiados a nivel internacional.

China, India y Malasia lideran las investigaciones sobre biorremediación, lo que refleja el enfoque proactivo en regiones altamente industrializadas o con alta densidad poblacional. México representa el 5% del total de los estudios analizados en este resultado de revisión como lo muestra la figura 14.

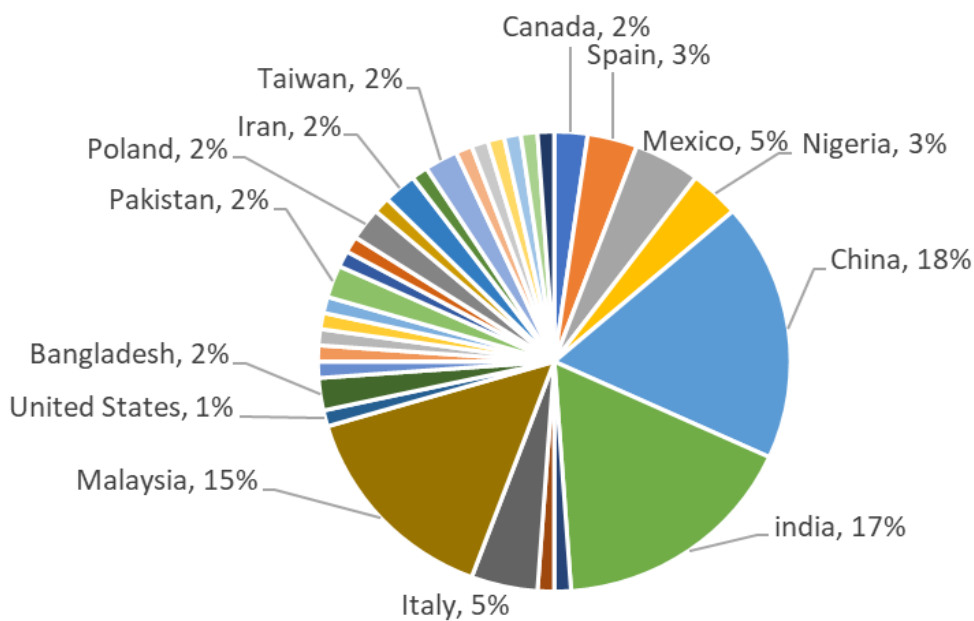


Figura 14. Porcentaje de estudios realizados a nivel mundial.

5.1.1. Impacto de los metales pesados

Los metales pesados son contaminantes tóxicos que tienen importantes efectos adversos sobre el medio ambiente y la salud humana. En el caso de suelos contaminados por lixiviados que contienen metales pesados, tienen efectos negativos sobre la calidad del suelo, la actividad microbiana y la salud de los ecosistemas [57], [103], [144], [154], [155], [156], [157]. Cuando los metales pesados entran en el suelo a través de los lixiviados, se acumulan en la superficie del suelo o penetran en capas más profundas, dando lugar a una reducción de la fertilidad del suelo y de la actividad microbiana. Los metales pesados también pueden acumularse en las plantas, lo que afecta a su crecimiento y a la calidad de sus nutrientes, y se transfiere a través de la cadena alimentaria [57], [103], [156], [157]. En los seres humanos, la exposición a metales pesados provoca una serie de problemas de salud, como enfermedades respiratorias, cardiovasculares, renales y neurológicas. Además, la exposición a metales pesados también pueden llegar a ser cancerígenas y mutagénicas [151], [158], [159], [160]. La actividad enzimática en suelos contaminados con metales pesados se reduce significativamente (10-50 veces) en comparación con suelos no contaminados [160]. Algunos ejemplos de metales pesados comunes en esta revisión sistemática son Al, Co, Pb, As, Cr, Ni, Zn, Cd y Cu [59], [112], [145], [146], [148], [161]. Los metales pesados permanecen en el suelo durante un periodo de tiempo considerable [106], [150], [156], [162]]. Por lo tanto, es importante tomar medidas para prevenir la contaminación de los suelos por lixiviados que contengan metales pesados y remediarlos cuando sea necesario. Además, es importante supervisar continuamente los suelos cercanos a vertederos y otros sitios de disposición de residuos para mitigar y prevenir la contaminación por metales pesados y otros contaminantes tóxicos [80], [148], [163].

5.2 *Identificación de vertedero con suelo contaminado.*

Como se mencionó en la sección de metodología, se realizaron muestreos y análisis en siete vertederos de residuos sólidos urbanos (RSU) ubicados en diferentes regiones. El vertedero 7 destaca las altas concentraciones de arsénico y mercurio, excediendo ampliamente los límites máximos permisibles establecidos por la norma oficial mexicana, tal como se observa en la tabla 10.

Tabla 10. Comparación de resultado del vertedero 7 respecto a la Norma Oficial Mexicana

Vertedero	Arsénico (mg/kg)	Mercurio (mg/kg)	Cadmio (mg/kg)	Cobre (mg/kg)	Cromo (mg/kg)	Plomo (mg/kg)
V7	93.7	1284.7	0.08	4.9	12	6.38
NOM-147- SEMARNAT/SSA1- 2004	22	23	37	10	280	400

Con base a estos resultados, se seleccionó el vertedero siete (V7) como el sitio adecuado para llevar a cabo la investigación debido a sus altos niveles de contaminación por metales pesados, específicamente arsénico y mercurio. El vertedero seleccionado para el estudio, ubicado en el noreste del centro de México, cuenta con un perímetro de 742.07 m. Aunque oficialmente cerrado, sigue recibiendo residuos sólidos urbanos de las comunidades cercanas, lo que ha generado pendientes pronunciadas e inestables, acumulación de lixiviados y escorrentías contaminantes hacia el entorno. La región presenta un clima semiárido con una temperatura promedio anual de 16.7 a 19 °C y una precipitación media anual de 576 mm, concentrada principalmente entre junio y septiembre, caracterizándose por días cálidos y noches frescas. La ubicación del vertedero se mantiene confidencial para evitar conflictos con propietarios y autoridades. La figura 15 muestra una vista aérea del vertedero seleccionado (V7), tomada de Google Earth [47]. El perímetro del vertedero está delimitado por una línea amarilla que marca su extensión aproximada, con un área total de 26,148 m². En el centro de la zona se observa un marcador azul que indica la ubicación exacta del sitio, identificado como "vertedero contaminado". El entorno del vertedero incluye terrenos áridos y vegetación escasa, característicos de una región semiárida. A la derecha de la imagen se observa imágenes reales del vertedero donde se aprecian residuos sólidos recientes, lo que evidencia que el vertedero continúa activo.

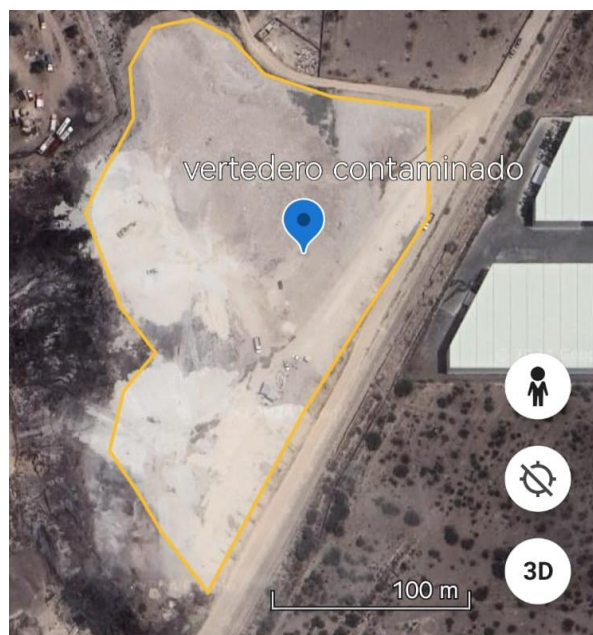


Figura 15. Vista aérea del vertedero contaminado [47].

5.3 Caracterización físico-química del suelo del vertedero y del área no contaminada

En esta sección se presentan los resultados de la caracterización físico-química del suelo del vertedero contaminado (V7) y de un área no contaminada seleccionada como control. El análisis incluyó parámetros como textura, pH, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico (CIC) y contenido de materia orgánica, así como las concentraciones de metales pesados presentes en el suelo. Estos datos permiten evaluar las diferencias significativas entre ambos suelos y establecer una línea base para comprender el impacto de los lixiviados en las propiedades físico-químicas del suelo, sirviendo como fundamento para el diseño de estrategias de remediación ambiental.

En la Tabla 11 se observa los resultados de las características asociadas a la estructura y composición física del suelo, abarcando su capacidad de retención de humedad, densidad, tanto real como aparente, temperatura, densidad de partículas y porosidad. Estas características influyen en la capacidad de los suelos para retener nutrientes y agua, además de en su resistencia y capacidad para facilitar la vegetación.

Tabla 11. Propiedades físicas del suelo

Parámetro	SNC	Interpretación	SC	Interpretación	Unidad
Humedad	1.99	Bajo-moderado	22.67	Medio-alto	%
Densidad real	2.2	NE	2.23	NE	g/ml
Densidad aparente	1.26	NE	1.65	NE	g/ml
Temperatura	26.75	NE	26.25	NE	°C
Densidad de partícula	2.77	NE	2.27	NE	g/ml
Porosidad	54.435	Menor porosidad, mayor retención de agua	51.11	Menor porosidad, mayor retención de agua	%
Color de Munsell	Gris oscuro	Presencia moderada de materia orgánica	Negro	Alta presencia de materia orgánica	Sin unidad

SNC: Suelo no contaminado; SC: Suelo contaminado; NE: No especifica

Los resultados indicaron que tanto el suelo contaminado como el no contaminado presentaron temperaturas similares, con diferencias mínimas de solo 0.5 °C, lo que sugiere que ambos estaban expuestos a condiciones ambientales homogéneas en la zona de muestreo. La densidad de las partículas también fue comparable, con una diferencia marginal de 0.5 g/ml, lo que implica una composición mineralógica similar en ambos tipos de suelo.

En contraste, el contenido de humedad fue significativamente mayor en el suelo contaminado (22.67%) en comparación con el suelo no contaminado (1.99%). Esta diferencia se atribuye a la presencia de lixiviados y metales pesados, que actúan como agentes de retención hídrica al dificultar el drenaje y liberar menos agua del suelo. Además, se observó una mayor densidad aparente en el suelo contaminado, lo que indica un aumento de la compactación causado por los contaminantes, que ejercen presión sobre las partículas del suelo, reduciendo los espacios porosos. Esta reducción de la porosidad restringe la circulación de agua y aire, comprometiendo la disponibilidad de nutrientes y afectando la salud de la vegetación en la zona contaminada.

Adicionalmente, el suelo contaminado presentó un cambio notable en su color con tonalidades más oscuras, lo que sugiere la presencia de materia orgánica en descomposición y contaminantes provenientes de lixiviados. Estas alteraciones en el color reflejan modificaciones en la composición y calidad del suelo debido a la contaminación.

En conjunto, las diferencias observadas en humedad, densidad aparente, porosidad y color evidencian un impacto significativo de los lixiviados y los metales pesados en las propiedades físicas del suelo. El incremento en humedad y compactación, junto con la reducción de la porosidad, indican una alteración adversa de la estructura del suelo atribuible directamente a los efectos de la contaminación.

El análisis químico comparativo presentado en la tabla 12, ofrece información valiosa sobre la influencia de la contaminación en las propiedades químicas del suelo.

Tabla 12. Propiedades químicas del suelo

Parámetro	SNC	Interpretación	SC	Interpretación	Unidad
CE	4.15	moderately saline	19.705	extremely saline	mScm ⁻¹
pH	7.96	slightly alkaline	7.99	slightly alkaline	Units
Total Nitrogen	310	very low	3100	very high	mg/Kg
Phosphorus	7.72	medium	13.63	high	mg/Kg
Potassium	512.13	medium	640.15	high	mg/Kg
Organic matter	0.96	low	6.2	medium	%
Organic Carbon	0.56	low	1.28	medium	%
Nitrates	65.39	NE	0.93	NE	mg/Kg
Ammoniacal Nitrogen	81.23	NE	9.89	NE	mg/Kg
CIC	24.36	NE	129.92	NE	mol(+)/kg
Ca	4,595.58	high	3322.66	high	mg/Kg
Mg	366.97	high	546.78	high	mg/Kg
S	124.11	NE	524.59	NE	mg/Kg

SNC: Suelo no contaminado; SC: Suelo contaminado; NE: No especifica, CE: Conductividad eléctrica, Ca: Calcio, Cd: Cadmio, Mg: Magnesio, S: Azufre

Los valores de pH en ambos suelos se mantuvieron cercanos a la neutralidad, lo que indica una naturaleza ligeramente alcalina adecuada para el crecimiento de la mayoría de las plantas. La concentración de nitrógeno total no mostró variaciones significativas, lo que sugiere una estabilidad en este parámetro pese a las condiciones de los suelos. En cuanto al calcio, ambos suelos presentaron concentraciones altas, favorables para la actividad biológica y el desarrollo vegetal.

Por otro lado, la conductividad eléctrica fue notablemente mayor en el suelo contaminado, lo que se asocia con un incremento en las sales solubles presentes. Este fenómeno podría estar relacionado con la presencia de lixiviados, los cuales también contribuyen a las diferencias observadas en los niveles de nitrógeno amoniacal y fósforo, al alterar la dinámica de estos nutrientes en el suelo. Asimismo, las concentraciones de potasio reflejan la incorporación de minerales adicionales debido a los lixiviados.

La materia orgánica y el carbono orgánico fueron más elevados en el suelo contaminado, debido a residuos urbanos en descomposición que modifican su composición. De manera similar, se observaron incrementos en los cationes intercambiables y el azufre, lo que sugiere cambios químicos relacionados con la incorporación de compuestos provenientes de los lixiviados. El aumento en la humedad del suelo contaminado indica alteraciones en la capacidad de drenaje, mientras que los altos niveles de conductividad eléctrica sugieren una mayor acumulación de sales solubles, lo cual podría afectar la salinidad del suelo y limitar la disponibilidad de nutrientes esenciales para las plantas. Estas diferencias químicas y físicas resaltan el impacto de las condiciones específicas del suelo en su funcionalidad y calidad.

En la Figura 16 se observa los dos tipos de suelo en función a la composición físico-química y grado de contaminación en cada una de ellas. En la Figura A, correspondiente al suelo contaminado, se observa una flora escasa, lo que puede explicarse por los niveles elevados de salinidad y la presencia de metales pesados. Aunque este suelo cuenta con nutrientes esenciales como calcio y fósforo en concentraciones relativamente altas, la alta conductividad eléctrica y la acumulación de sales solubles dificultan la absorción de nutrientes por las plantas. Además, la compactación del suelo y la reducción de la porosidad, evidenciadas en los resultados previos, restringen la circulación de aire y agua, limitando el desarrollo vegetal y creando un entorno hostil para el crecimiento de la flora.

En contraste, la Figura B muestra el suelo no contaminado, que exhibe una abundante cobertura vegetal. Esto se atribuye a una menor concentración de sales solubles y metales pesados, lo que permite un entorno más favorable para la absorción de nutrientes, a pesar de que las concentraciones de algunos elementos, como fósforo y potasio, son menores en comparación con el suelo contaminado. Adicionalmente, la mayor porosidad y menor densidad aparente en el suelo no contaminado facilitan el drenaje, la circulación de agua y aire, y el desarrollo radicular, lo que contribuye al establecimiento de una flora más diversa y abundante.

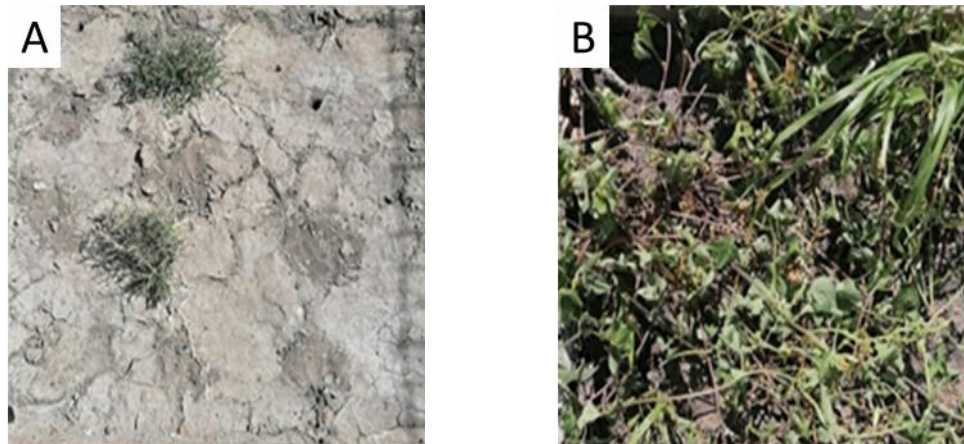


Figura 16. Comparación vegetativa entre el suelo contaminado (A) y suelo no contaminado (B).

Estas observaciones refuerzan la influencia de la contaminación por lixiviados y metales pesados en las propiedades físico-químicas del suelo, destacando cómo estas afectan directamente la capacidad del suelo para sostener el crecimiento vegetal. La relación entre la salinidad elevada y la escasa vegetación en el suelo contaminado contrasta claramente con las condiciones más favorables para la flora en el suelo no contaminado. Con respecto a la textura de estos suelos, los resultados revelaron diferencias sustanciales, lo que fundamenta el impacto de la contaminación en el suelo.

El suelo no contaminado presentó una composición del 39.32% de arena, 34.68% de arcilla y 26% de limo. Según la clasificación de la pirámide textural del suelo (figura 17), este suelo se categoriza como arcillo-limoso, lo que indica una mezcla equilibrada de partículas de distintos tamaños.

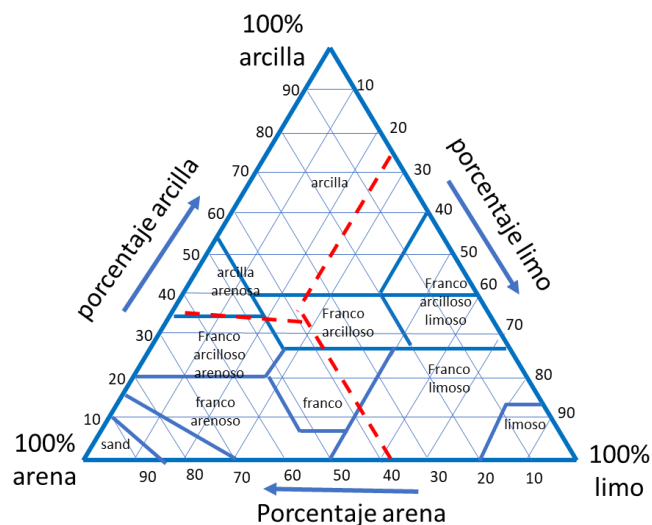
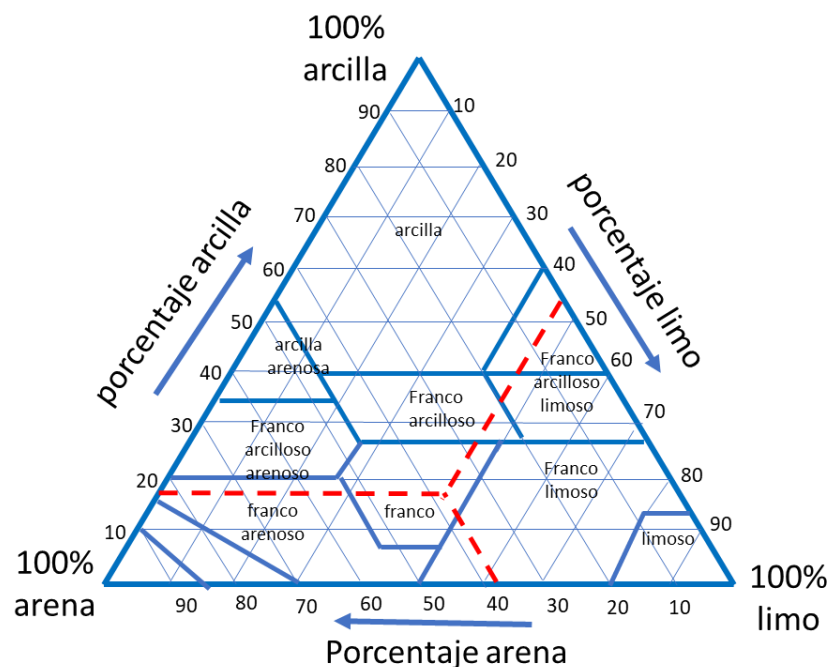


Figura 17. Pirámide de textura del suelo que muestra los resultados del suelo no contaminado [164].

Esta textura favorece una buena retención de agua y nutrientes, así como una adecuada aireación, características esenciales para el desarrollo de la vegetación y la actividad microbiana.

Por el contrario, el suelo contaminado mostró una composición diferente, con un 38.04% de arena, 16.68% de arcilla y 45.28% de limo, lo que lo clasifica como suelo franco según la pirámide textural del suelo (figura 18). La disminución en el contenido de arcilla en este suelo sugiere una menor capacidad de retención de agua y nutrientes, mientras que el aumento del limo podría estar asociado con la deposición de partículas finas provenientes de los lixiviados. Estas alteraciones texturales pueden influir negativamente en la capacidad del suelo para soportar la vegetación y en su potencial para procesos de biorremediación.

Figura 18. Pirámide de textura del suelo que muestra los resultados del suelo contaminado [164].



La textura del suelo es un factor crítico en la efectividad de las técnicas de

biorremediación, como lo destacan diversos estudios científicos. Por ejemplo, [165] demostraron que las propiedades texturales del suelo afectan significativamente la capacidad de retención y acumulación de metales pesados, siendo los suelos más arcillosos y ricos en materia orgánica los que mostraron una mayor capacidad de acumulación. Esto implica que suelos con menor proporción de arcilla, como el suelo contaminado del presente estudio, podrían requerir estrategias de remediación complementarias para mejorar su eficacia.

En un enfoque complementario, [50] señalaron que no solo la textura, sino también el pH del suelo, influye en la efectividad de la biorremediación. Los suelos con pH ácido presentaron menores tasas de remediación, lo que refuerza la importancia de considerar las propiedades químicas del suelo al seleccionar las técnicas adecuadas.

Por su parte, [166] destacaron que la materia orgánica del suelo es un factor determinante para la aplicación de técnicas como la fitorremediación. Suelos ricos en materia orgánica demostraron ser más aptos para este tipo de abordajes, sugiriendo que las propiedades químicas y biológicas deben ser consideradas en conjunto con la textura para un manejo efectivo.

Finalmente, [118] propusieron enfoques innovadores como la fitorremediación asistida por bacterias, que combina las propiedades biológicas del suelo con procesos de remediación, mitigando así las limitaciones asociadas a la textura del suelo. Esto subraya la importancia de estrategias avanzadas, como la bioaumentación con microorganismos nativos, para maximizar los resultados de la remediación en suelos con características desfavorables.

5.4 Resultado de análisis de metales pesados en suelo contaminado y no contaminado

Los resultados evidencian diferencias marcadas entre las concentraciones de metales pesados en el suelo contaminado y el suelo no contaminado. El arsénico en el suelo contaminado alcanzó un valor de 93.7 mg/kg, superando más de cuatro veces el límite máximo permisible de 22 mg/kg. Asimismo, las concentraciones de mercurio en el suelo contaminado fueron excepcionalmente altas, alcanzando 1284.7 mg/kg, un valor que excede en más de 50 veces el límite establecido de 23 mg/kg. Estas observaciones son consistentes con investigaciones previas en áreas similares, como las realizadas por [56],

[83], [132] así como las de [50], que también reportaron niveles elevados de metales pesados asociados a lixiviados en suelos cercanos a áreas urbanas. Estos hallazgos refuerzan la evidencia de que las actividades relacionadas con los vertederos constituyen fuentes primarias de contaminación por estos metales pesados en suelos, el cual no solo alteran las propiedades químicas, sino que también representan riesgos graves para la salud pública debido a su persistencia y bioacumulación en la cadena alimentaria. Lo que representa un riesgo crítico para la calidad del suelo, el agua subterránea y los organismos vivos en la zona.

En cuanto al cobre y el plomo, se observaron concentraciones de 4.9 mg/kg y 6.38 mg/kg, respectivamente, en el suelo contaminado. Si bien estos valores permanecen por debajo de los límites permisibles, 10 mg/kg para el cobre y 400 mg/kg para el plomo, son notablemente superiores a los registrados en el suelo no contaminado, lo que sugiere un aporte directo de estos metales a través de los lixiviados.

Por otro lado, las concentraciones de cadmio y cromo en el suelo contaminado se mantuvieron por debajo de los límites máximos permisibles (37 mg/kg y 280 mg/kg, respectivamente), pero con incrementos respecto al suelo no contaminado. En el cual se observa una acumulación menos pronunciada, aunque no exenta de riesgos ambientales a largo plazo.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto el impacto significativo de los lixiviados de residuos sólidos en la contaminación del suelo, particularmente en la acumulación de arsénico y mercurio, que superaron ampliamente los niveles considerados seguros según la Norma Oficial.

La presencia de niveles elevados de metales pesados afecta directamente la funcionalidad del suelo, disminuyendo su calidad y comprometiendo su capacidad para sostener procesos biológicos y productivos. Además, la acumulación de estos contaminantes puede influir negativamente en la calidad del agua subterránea, aumentando el riesgo de exposición humana y de los ecosistemas cercanos.

Estrategias como la biorremediación asistida con microorganismos nativos y la estabilización química del suelo podrían ser alternativas viables para abordar este problema. Estudios como las de [166] y [118], han demostrado la efectividad de enfoques integrados, que combinan técnicas de bioaumentación, fitorremediación y el

uso de microorganismos nativos para reducir la concentración de contaminantes en suelos impactados por lixiviados.

Dada la magnitud de la contaminación observada en los resultados de esta sección, es imprescindible implementar medidas inmediatas de remediación para mitigar el impacto ambiental y proteger la salud de las comunidades locales.

5.5 Resultado comparativo de los análisis microbiológicos en suelo contaminado y no contaminado.

En esta sección, se presentan y analizan los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos comparativos entre el suelo contaminado y no contaminado. El objetivo es evaluar cómo la presencia de contaminantes influye en la diversidad y actividad de los microorganismos del suelo, proporcionando una comprensión más profunda de los impactos ecológicos de la contaminación y la capacidad de resiliencia de estos ecosistemas.

5.5.1. Resultados de análisis de familia microbiana.

El análisis de la diversidad microbiana en suelos contaminados (SC) y no contaminados (SNC) reveló diferencias significativas en la composición y abundancia de las familias bacterianas presentes, como se muestra en la figura 19. En el suelo contaminado con lixiviados, se observó una dominancia notable de la familia *Bacillaceae*, con varias subfamilias representadas: 9.600% *Bacillaceae*, 2.890% *Bacillaceae_G*, 20.171% *Bacillaceae_H*, 3.102% *Bacillaceae_L*, 23.971% *Bacillaceae_B*, 3.847% *DSM-1321*, 29.024% *DSM-18226* y 2.922% *Amphibacillaceae*. Otras familias estuvieron presentes en menores proporciones, como *Brevibacteriaceae* (0.014%), *Microbacteriaceae* (0.044%), *Micrococcaceae* (0.019%), *Streptomyetaceae* (0.035%), *Planococcaceae* (0.724%), *Paenibacillaceae* (0.230%), *Staphylococcaceae* (0.887%) y *Pseudomonadaceae* (2.471%).

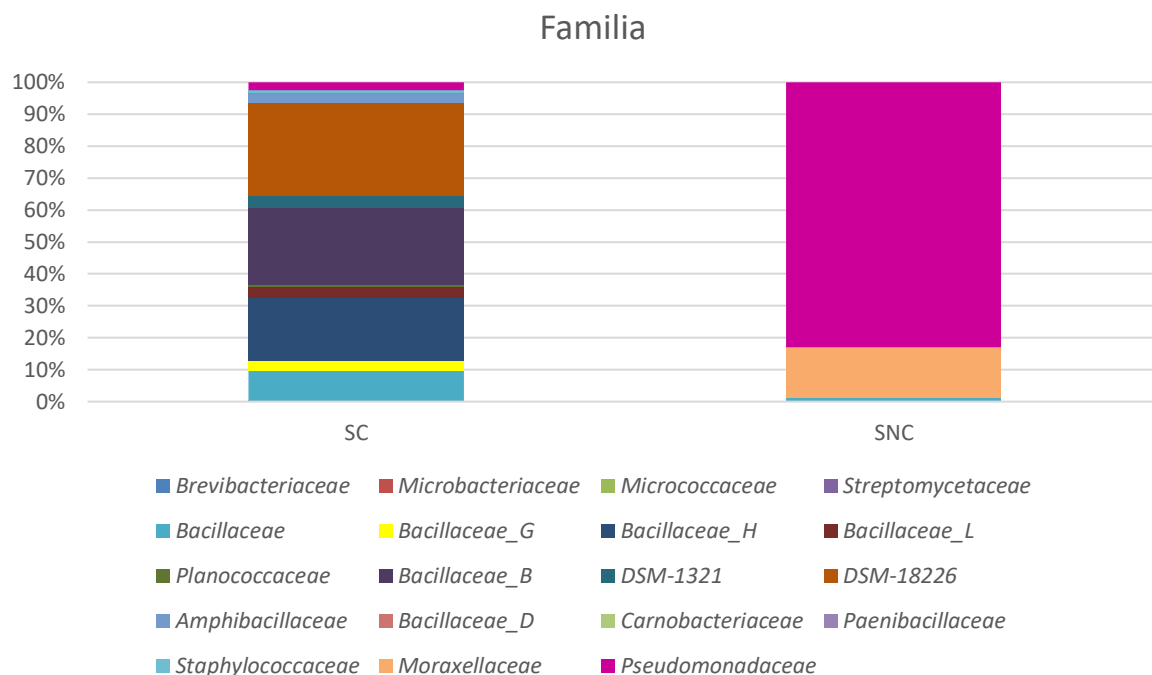


Figura 19. Comparación de familias bacterianas entre el SC: Suelo contaminado y SNC: Suelo no contaminado.

Estos resultados sugieren que las subfamilias de *Bacillaceae* prevalecen en condiciones contaminadas, lo que indica una alta adaptabilidad y el desarrollo de mecanismos eficientes para sobrevivir y proliferar en ambientes desfavorables. Estudios previos han demostrado la capacidad de especies del género *Bacillus* para tolerar y degradar una amplia gama de contaminantes, incluyendo metales pesados y compuestos orgánicos tóxicos [167], [168].

En contraste, el suelo no contaminado mostró una composición bacteriana dominada en un 82.942% por la familia *Pseudomonadaceae* y en un 15.898% por *Moraxellaceae*. Las familias presentes en el suelo contaminado, como *Bacillaceae* y otras mencionadas anteriormente, no fueron detectadas en el suelo no contaminado. La predominancia de *Pseudomonadaceae* en SNC indica que estas bacterias prosperan mejor en condiciones menos afectadas por la contaminación. Las bacterias de la familia *Pseudomonadaceae* son conocidas por su versatilidad metabólica y su capacidad para degradar compuestos orgánicos en condiciones no contaminadas, lo que podría explicar su alta prevalencia en SNC [169], [170], [171], [172].

La ausencia de *Bacillaceae* en SNC sugiere que esta familia bacteriana prospera principalmente en ambientes contaminados. Estudios previos han asociado frecuentemente a *Bacillus spp.* con suelos contaminados, especialmente en áreas con lixiviados industriales y

residuos sólidos [173], [174], [175].

Estos resultados revelan que la contaminación del suelo influye significativamente en la estructura de las comunidades microbianas, favoreciendo la proliferación de bacterias adaptadas a condiciones adversas, como las pertenecientes a la familia *Bacillaceae*, mientras que en suelos no contaminados predominan bacterias con una mayor versatilidad metabólica, como las de la familia *Pseudomonadaceae*.

5.5.2. Resultados de análisis de genero microbiano.

El análisis de la diversidad microbiana a nivel de género como se muestra en la figura 20, reveló diferencias significativas en la composición y abundancia de los géneros bacterianos entre el suelo contaminado (SC) y no contaminados (SNC). En SC, se observó una predominancia notable de géneros pertenecientes a la familia *Bacillaceae* y otros géneros resistentes a la contaminación, incluyendo *Cytobacillus* (28.591%), *Rosellomorea* (23.971%), *Priestia* (18.487%), *Metabacillus* (5.315%), *Bacillus* (4.285%), *Peribacillus* (3.847%), *Ferdinandcohnia* (3.102%), *Virgibacillus* (2.372%), *Bacillus_A* (2.890%), *Bacillus_I* (1.684%), *Pseudomonas_A* (2.412%), *Mammaliicoccus* (0.824%) y *Planococcus* (0.436%). Otros géneros estuvieron presentes en proporciones menores, como *Psychrobacillus* (0.134%), *Ornithinibacillus* (0.494%), *Paenibacillus* (0.230%), *Ureibacillus* (0.055%), *Gracilibacillus* (0.046%), *Microbacterium* (0.044%), *Streptomyces* (0.035%), *Alkalihalobacillus_A* (0.031%), *Solibacillus* (0.019%), *Marinilactibacillus* (0.018%), *Brevibacterium* (0.014%), *Staphylococcus* (0.063%) y *Terribacillus* (0.011%). Es importante mencionar que no se registró la presencia de *Acinetobacter* en esta muestra.

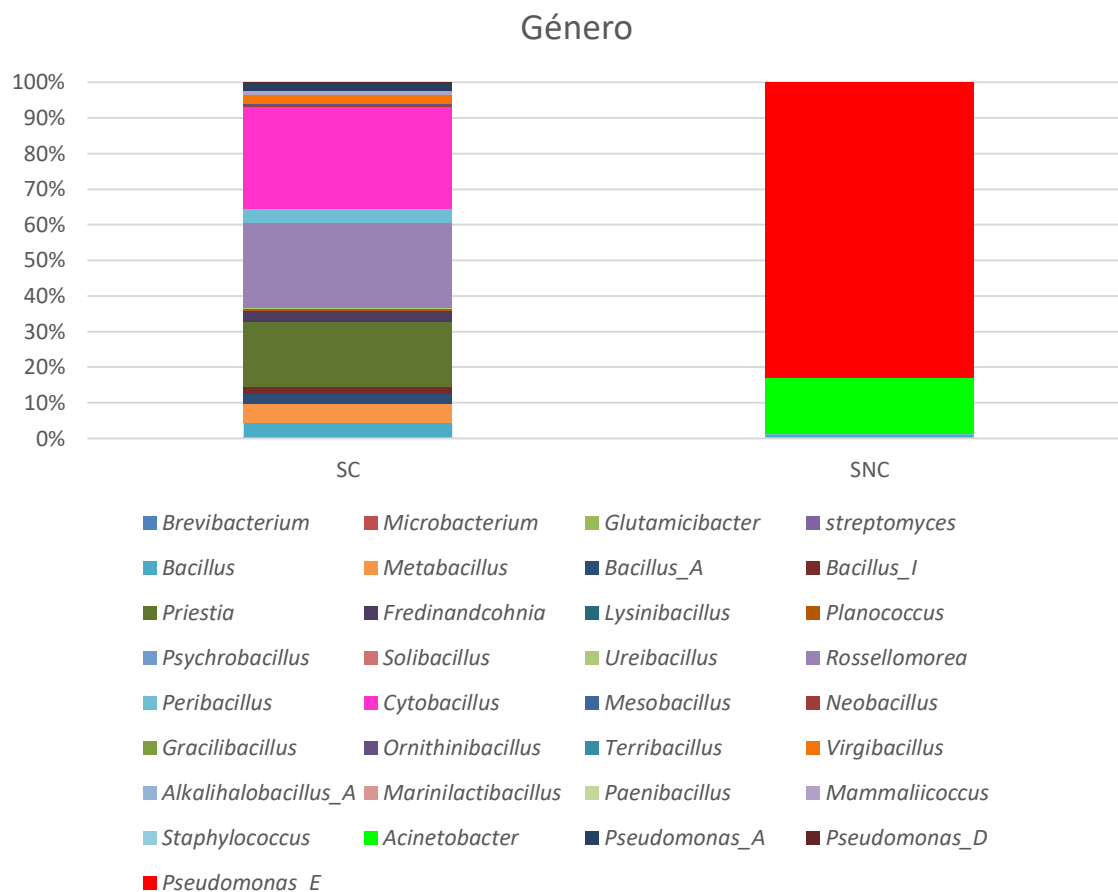


Figura 20. Comparación de géneros bacterianos entre el SC: Suelo contaminado y SNC: Suelo no contaminado.

En contraste, en el SNC mostró una composición bacteriana dominada por *Pseudomonas_E* (82.942%) y *Acinetobacter* (15.898%). No se detectaron géneros como *Cytobacillus*, *Rossellomorea*, *Priestia*, *Metabacillus* ni otros géneros menores presentes en SC.

La abundancia de géneros como *Cytobacillus* (28.591%), *Rossellomorea* (23.971%) y *Priestia* (18.487%) en CS sugiere que estos géneros, pertenecientes a la familia *Bacillaceae*, poseen mecanismos adaptativos que les permiten sobrevivir y proliferar en ambientes contaminados [176], [177], [178]. Estudios previos han indicado que especies de *Cytobacillus* y *Priestia* tienen la capacidad de degradar compuestos orgánicos y detoxificar metales pesados, lo que refuerza su predominancia en suelos contaminados [179], [180], [181] .

La presencia de *Pseudomonas_A* (2.412%) en SC es relevante, ya que las especies de *Pseudomonas* son conocidas por su capacidad para degradar contaminantes y adaptarse a

diversos entornos [171], [182], [183]. La coexistencia de géneros como *Metabacillus* (5.315%) y *Peribacillus* (3.847%) en SC indica que los suelos contaminados con lixiviados promueven la proliferación de bacterias con diferentes capacidades metabólicas, favoreciendo aquellas que pueden sobrevivir en ambientes contaminados. Este fenómeno es consistente con estudios previos sobre microbiota en suelos de vertederos y otros contaminantes industriales [171], [182], [184].

En contraste, la dominancia de los géneros *Pseudomonas_E* (82.942%) y *Acinetobacter* (15.898%) en SNC sugiere que estas bacterias mantienen una estructura microbiana más estable y diversa en ausencia de altos niveles de contaminación. Diversos estudios describen a las *Pseudomonas* como organismos clave en la remediación del suelo y en la promoción de la salud del suelo en entornos menos contaminados [185], [186].

La presencia significativa de *Acinetobacter* en SNC enfatiza su papel en la regulación microbiana bajo condiciones menos adversas. *Acinetobacter* ha sido descrito como un género importante en suelos no contaminados, ya que puede sobrevivir mejor en ambientes donde los recursos están más equilibrados y los niveles de toxicidad no son altos [187], [188]. Su ausencia en suelos contaminados indica que los lixiviados de vertederos afectan negativamente su viabilidad y favorecen a géneros más resistentes, como los de la familia *Bacillaceae*.

Los resultados comparativos de géneros bacterianos confirman que la contaminación del suelo influye significativamente en la estructura de las comunidades microbianas, favoreciendo la proliferación de bacterias adaptadas a condiciones adversas, como las pertenecientes a la familia *Bacillaceae*, mientras que en suelos no contaminados predominan bacterias con una mayor versatilidad metabólica, como las de los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter*.

5.5.3 Resultados de análisis de especies microbianas

El análisis de la diversidad microbiana a nivel de especie reveló diferencias notables en la composición y abundancia entre suelos contaminados (SC) y no contaminados (SNC) como indica la figura 21, evidenciando la influencia del lixiviado en la estructura de la comunidad microbiana. En SC, se identificó una alta prevalencia de especies del género *Bacillus* y otros géneros resistentes a la contaminación.

Especies

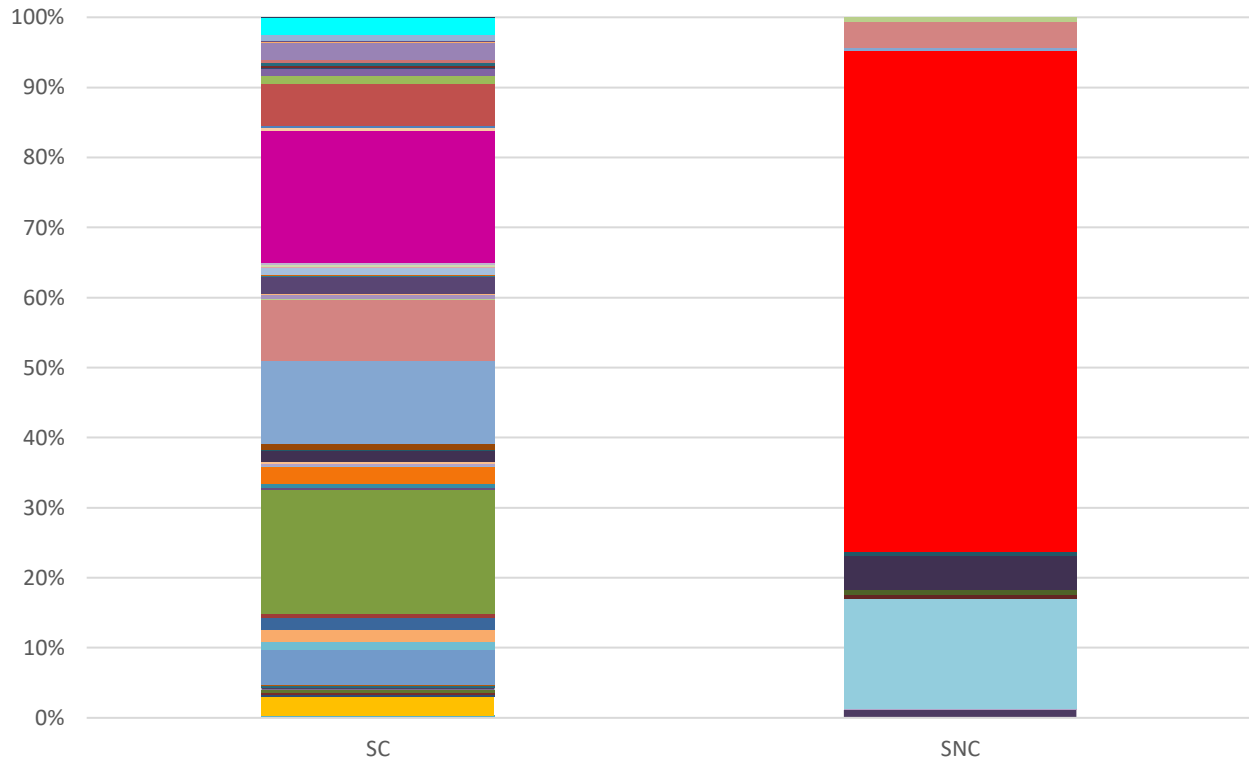


Figura 21. Comparación de especies bacterianas entre el SC: Suelo contaminado y SNC: Suelo no contaminado.

Las especies más abundantes fueron *Cytobacillus firmus_B* (18.872%), *Priestia megaterium* (17.821%) y *Rossellomorea aquimaris_D* (11.812%). Estas especies son reconocidas por su capacidad para tolerar condiciones tóxicas y degradar una variedad de compuestos, incluyendo metales pesados y compuestos orgánicos [29], [40], [168], [179], [189].

Además, se detectaron especies como *Pseudomonas_Astutzeri_AI* (2.412%) y *Virgibacillus picturae* (2.372%), conocidas por sus capacidades de biorremediación. Estudios previos han demostrado que *Pseudomonas aeruginosa* posee una notable capacidad para degradar metales pesados en sedimentos contaminados [40], [190], [191], [192].

La presencia de estas especies sugiere que los suelos contaminados promueven la proliferación de bacterias con capacidades metabólicas especializadas para sobrevivir en ambientes hostiles [40], [191], [192].

En contraste, el SNC presentó una composición microbiana dominada por *Pseudomonas_E oleovorans* (71.490%) y *Acinetobacter schindleri* (15.795%). Estas especies desempeñan roles cruciales en la regulación de la salud del suelo y en procesos de degradación de materia orgánica en condiciones menos contaminadas. Investigaciones han señalado que *Pseudomonas putida* es eficaz en la degradación de fracciones aromáticas del petróleo, lo que resalta su importancia en la biorremediación de suelos contaminados [193], [194], [195].

La ausencia de especies como *Cytobacillus firmus_B*, *Priestia megaterium* y *Rossellomorea aquimaris_D* en SNC sugiere que estas especies están adaptadas para proliferar en ambientes con lixiviados. Por otro lado, la predominancia de *Pseudomonas_E oleovorans* y *Acinetobacter schindleri* en este mismo tipo de suelo indica que estas bacterias son fundamentales en la regulación de ecosistemas microbianos en suelos no contaminados. Estos hallazgos subrayan la importancia de monitorear la diversidad microbiana como indicador de la salud del suelo y sugieren que las comunidades bacterianas sirven como bioindicadores para evaluar la calidad de suelos contaminados. La variación en la composición microbiana entre SC y SNC refleja cómo las comunidades bacterianas se adaptan a diferentes condiciones ambientales, lo que es esencial para el desarrollo de

SNC

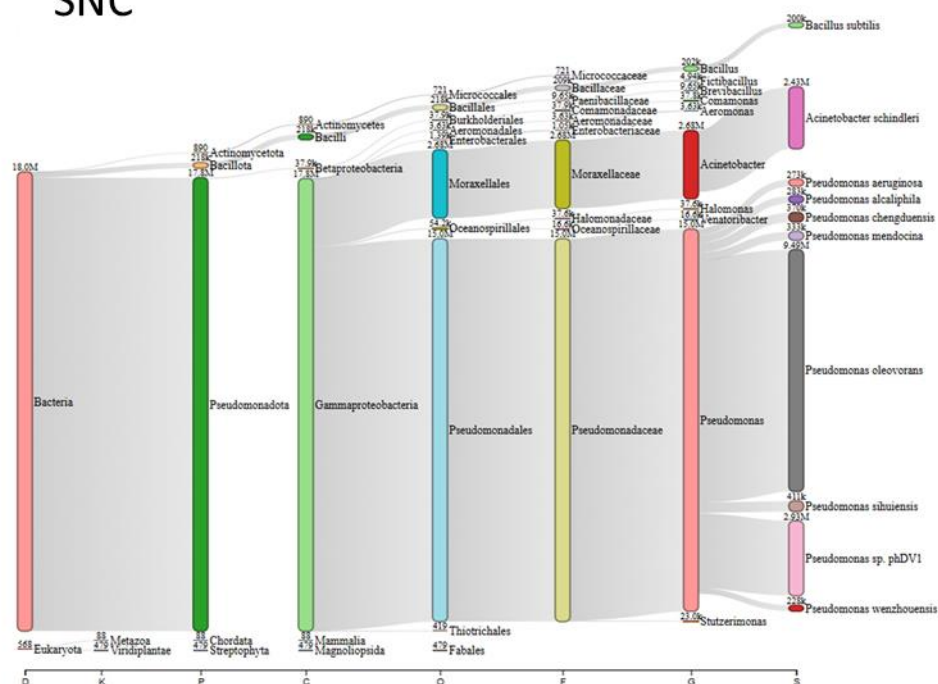


Figura 22. Resultados del cribado de la diversidad microbiana. SC: Composición taxonómica de las comunidades microbianas asociadas a la muestra del suelo contaminado, SNC: Composición taxonómica de las comunidades microbianas asociadas a la muestra del suelo no contaminado.

En SC, se observa un predominio de *Bacillota* (10.0 millones), seguido de *Actinomycetota* (65.4 mil) y *Pseudomonadota* (354 mil). A nivel de clase, los *Bacilli* (10.0 millones) son dominantes, junto con un menor número de *Actinomycetes* (65.4 mil) y *Gammaproteobacteria* (350 mil). Este predominio sugiere que las *Bacillota*, particularmente de la familia *Bacillaceae*, han desarrollado mecanismos de resistencia y adaptación a los compuestos tóxicos del lixiviado. Se ha reportado que especies de *Bacillus* y *Cytobacillus* poseen alta capacidad para la bioadsorción y detoxificación de metales pesados a través de la producción de exopolisacáridos y metalotioneínas [167], [168], [181], [202].

Por otro lado, en SNC, los *Pseudomonadota* (18.0 millones) representan el grupo más abundante, seguidos de *Bacillota* (218 mil) y *Actinomycetota* (890 unidades). A nivel de

clase, los *Gammaproteobacteria* (17.8 millones) son predominantes, con menor representación de Bacilli (218 mil) y *Actinomycetes* (890 unidades). La alta presencia de *Gammaproteobacteria*, particularmente de Pseudomonadales y *Moraxellales*, indica que estas bacterias prosperan mejor en suelos menos impactados por contaminantes. Investigaciones han demostrado que *Pseudomonas* y *Acinetobacter* desempeñan un papel clave en la degradación de compuestos orgánicos y en la solubilización de nutrientes esenciales para la fertilidad del suelo [63], [203].

En SC, los géneros más representativos son *Cytobacillus* (3.98 millones), *Priestia* (2.62 millones) y *Bacillus* (1.84 millones). A nivel de especie, se identificaron *Cytobacillus firmus* (2.83 millones), *Priestia megaterium* (2.28 millones) y *Bacillus halotolerans* (188 mil), lo que sugiere que estas bacterias han desarrollado mecanismos de resistencia a metales pesados. Diversos estudios han reportado que *Cytobacillus firmus* posee la capacidad de formar biopelículas y precipitar metales pesados en su entorno, reduciendo su toxicidad y facilitando su biorremediación [29], [168], [204], [205].

En SNC, el género predominante es *Pseudomonas* (15.0 millones), seguido de *Acinetobacter* (2.58 millones) y *Bacillus* (202 mil). A nivel de especie, destacan *Pseudomonas oleovorans* (9.49 millones) y *Pseudomonas sp. phDV1* (2.93 millones), mientras que *Acinetobacter schindleri* (2.43 millones) y *Pseudomonas aeruginosa* (273 mil) se encuentran en menor cantidad. La alta presencia de *Pseudomonas* en SNC está en concordancia con estudios que evidencian su papel en la degradación de hidrocarburos y compuestos orgánicos en suelos no contaminados [206], [207], [208], [209], [210].

La comparación entre SC y SNC revela que la contaminación por lixiviados en vertederos altera significativamente la estructura microbiana del suelo. La dominancia de *Bacillota* en SC sugiere que estas bacterias han desarrollado estrategias de resistencia, como la bioadsorción de metales pesados y la producción de enzimas detoxificantes, lo que coincide con estudios previos que identifican a *Bacillus* y *Cytobacillus* como degradadores eficientes de contaminantes [29], [204]. Por otro lado, la prevalencia de *Pseudomonadota* en SNC indica que estos microorganismos prosperan en ambientes menos perturbados, donde desempeñan funciones ecológicas clave en la estabilidad del suelo. La alta sensibilidad de *Pseudomonas* a los lixiviados sugiere que la contaminación actúa como un filtro selectivo que favorece la proliferación de bacterias más resistentes en SC, mientras que en SNC se

mantiene una mayor diversidad y estabilidad microbiana [169], [173], [211], [212].

Los resultados obtenidos muestran que la contaminación por lixiviados en vertederos genera una selección microbiana que favorece la proliferación de *Bacillota* en SC, mientras que en SNC predomina *Pseudomonadota*, lo que sugiere que las bacterias más resistentes prosperan en ambientes contaminados. Esta información es crucial para el diseño de estrategias de biorremediación, ya que la presencia de especies como *Cytobacillus firmus* y *Priestia megaterium* en SC podría ser aprovechada para la remediación de suelos contaminados con metales pesados y otros compuestos tóxicos. Estos hallazgos respaldan la importancia del monitoreo de la diversidad microbiana en suelos impactados por actividades antropogénicas y destacan el potencial de ciertos microorganismos para aplicaciones biotecnológicas en la restauración ambiental [211], [213], [214].

5.7. Mapa de calor de la taxonomía bacteriana

Los resultados del análisis metagenómico presentados en la figura 23 revelan diferencias significativas en la estructura y composición bacteriana entre los suelos contaminados (SC) y no contaminados (SNC). En SNC, especies bacterianas como *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas mendocina* y *Pseudomonas alcaliphila* mostraron una mayor abundancia, lo que sugiere que estos microorganismos predominan en suelos no contaminados debido a su capacidad para participar en procesos fundamentales como la descomposición de materia orgánica y el ciclo de nutrientes[215]. En contraste, SC exhibió una mayor abundancia de bacterias resistentes como *Acinetobacter schindleri*, *Stenotrophomonas rhizophila* y *Cytobacillus oceanisediminis*, las cuales son conocidas por su capacidad de tolerar condiciones adversas, incluidas la presencia de metales pesados y compuestos tóxicos derivados del lixiviado[216]. Este patrón sugiere una selección de especies especializadas en ambientes contaminados, destacando la capacidad de estas bacterias para resistir y adaptarse a altas concentraciones de contaminantes[217].

La disminución en la abundancia de especies típicas de SNC, como *Bacillus subtilis* en SC, respalda la hipótesis de que las condiciones tóxicas del lixiviado limitan el desarrollo de bacterias sensibles, mientras que favorecen el crecimiento de aquellas con mecanismos de resistencia. Estos resultados coinciden con estudios previos que han reportado la prevalencia de géneros como *Acinetobacter* y *Stenotrophomonas* en suelos contaminados, debido a su

capacidad de detoxificación y degradación de contaminantes orgánicos e inorgánicos[218], [219]. Además, la presencia de *Cytobacillus oceanisediminis* en SC sugiere que este microorganismo puede desempeñar un papel clave en la biorremediación de suelos impactados por lixiviados, lo que concuerda con investigaciones que han descrito su tolerancia a ambientes extremos y su potencial aplicación en procesos de remediación ambiental.

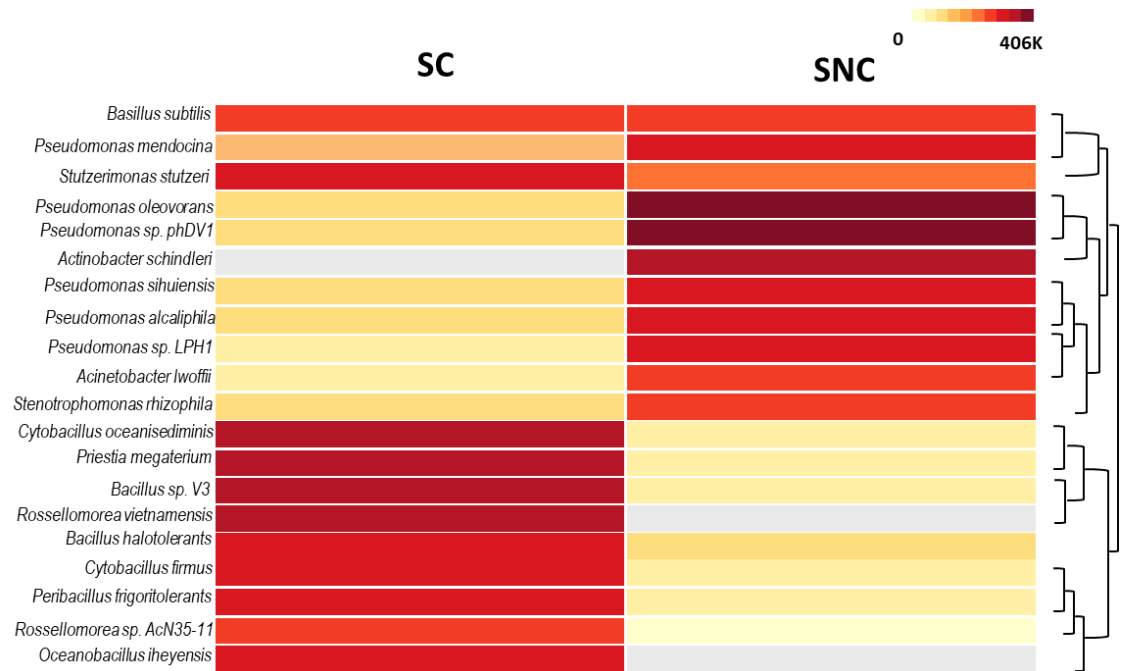


Figura 23. Análisis metagenómicos entre el suelo contaminado (SC) y suelo no contaminado (SNC)

El análisis de la distribución de bacterias patógenas en SC y SNC en la figura 24 reveló diferencias claras en la prevalencia de especies. En SC, se observó una mayor abundancia de patógenos como *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*, lo que sugiere un ambiente favorable para el desarrollo de microorganismos resistentes asociados a infecciones humanas, debido a las condiciones adversas originadas por el lixiviado. Estas bacterias son conocidas por su capacidad para formar biopelículas y resistir condiciones de estrés, aprovechando la alta disponibilidad de compuestos tóxicos en SC [220], [221], [222]. Por otro lado, SNC presentó una menor diversidad y abundancia de estos patógenos, indicando que la ausencia de contaminantes permite una comunidad bacteriana menos especializada y más estable.

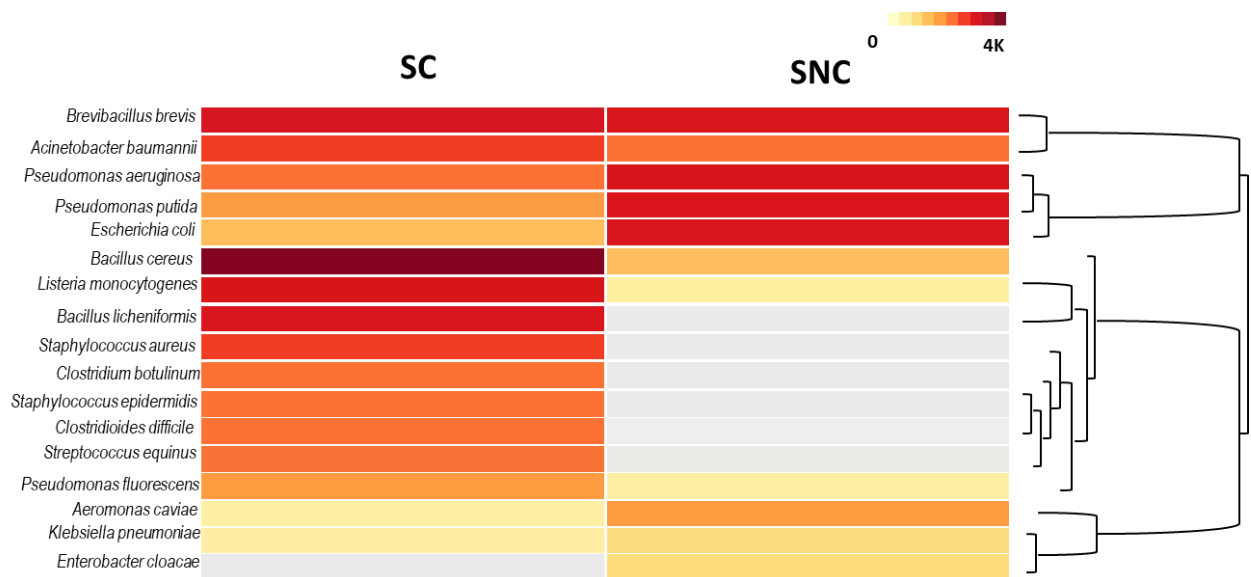


Figura 24. Análisis de la distribución de bacterias patógenas en suelo contaminado (SC) y suelo no contaminado (SNC).

Investigaciones previas han demostrado que los ambientes contaminados tienden a seleccionar microorganismos patógenos, lo que tiene implicaciones tanto ambientales como de salud pública [223], [224]. La presencia de patógenos en suelos contaminados representa un riesgo elevado debido a la propagación de enfermedades infecciosas, especialmente cuando estos suelos se encuentran cerca de fuentes de agua o comunidades humanas [218], [219], [223], [224], [225]. La selección de bacterias altamente resistentes en SC enfatiza la importancia de desarrollar estrategias de biorremediación eficaces que no solo reduzcan la toxicidad del suelo, sino que también limiten la proliferación de microorganismos patogénicos con potencial impacto negativo en la salud humana y ambiental.

En conjunto, estos hallazgos sugieren que la contaminación por lixiviados modifica drásticamente la estructura microbiana del suelo, promoviendo la colonización de especies resistentes con capacidades metabólicas especializadas. La comprensión de estos cambios es esencial para el diseño de estrategias de biorremediación basadas en la bioestimulación o bioaumentación de microorganismos clave, como *Cytobacillus firmus* y *Priestia megaterium*, que han demostrado potencial para la remediación de suelos contaminados con metales pesados y otros compuestos tóxicos[181]. Estos resultados refuerzan la importancia de monitorear la diversidad microbiana en suelos impactados por actividades antropogénicas y destacan el papel de ciertos microorganismos en aplicaciones biotecnológicas dirigidas a la restauración ambiental.

El mapa de calor en la figura 25 se observa una mayor abundancia de especies bacterianas en SC, con predominancia de patógenos oportunistas como *Brevibacillus brevis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* y *Listeria monocytogenes*. Estos microorganismos son ampliamente conocidos por su capacidad de resistir condiciones adversas, incluyendo la presencia de metales pesados (HMs) y compuestos tóxicos derivados de lixiviados, lo que sugiere una fuerte presión selectiva en ambientes contaminados [219], [220], [221], [222].

La mayor abundancia de *Bacillus cereus* en SC es un hallazgo relevante, ya que esta especie es capaz de formar endosporas altamente resistentes, permitiéndole sobrevivir en condiciones extremas. Su asociación con ambientes contaminados ha sido reportada en estudios previos, donde se destaca su papel en la degradación de compuestos orgánicos recalcitrantes y su potencial en procesos de biorremediación [225]. De manera similar, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* son especies reconocidas por su resistencia a múltiples antibióticos y su capacidad para formar biofilms, lo que les confiere una ventaja competitiva en entornos con alta presencia de contaminantes [223], [226].

En contraste, SNC presenta una menor diversidad de patógenos y una mayor representación de especies comúnmente encontradas en suelos no contaminados. La reducción en la abundancia de bacterias como *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* sugiere que la ausencia de lixiviados limita el desarrollo de microorganismos resistentes a condiciones extremas. Esto concuerda con estudios previos que han demostrado que la contaminación por lixiviados altera significativamente la estructura microbiana del suelo,

promoviendo la colonización de especies resistentes y reduciendo la diversidad de bacterias sensibles [21], [227].

Además, se observa una mayor expresión de genes asociados a resistencia a antibióticos y metales pesados en SC. La presencia de genes como *ermB*, *ermC* (resistencia a macrólidos), *tetA* (resistencia a tetraciclinas) y las bombas de eflujo *mexF* y *mexE* indica que la contaminación con lixiviados favorece la selección de microorganismos con mecanismos de resistencia antimicrobiana. Estudios recientes han demostrado que los lixiviados contienen compuestos antimicrobianos que ejercen una presión selectiva sobre la microbiota del suelo, promoviendo la proliferación de bacterias resistentes [228]. Asimismo, la alta expresión de genes involucrados en la tolerancia a metales pesados, como *czcA* y *copA*, refuerza la hipótesis de que la microbiota en CS ha desarrollado adaptaciones específicas para sobrevivir en entornos contaminados [229].

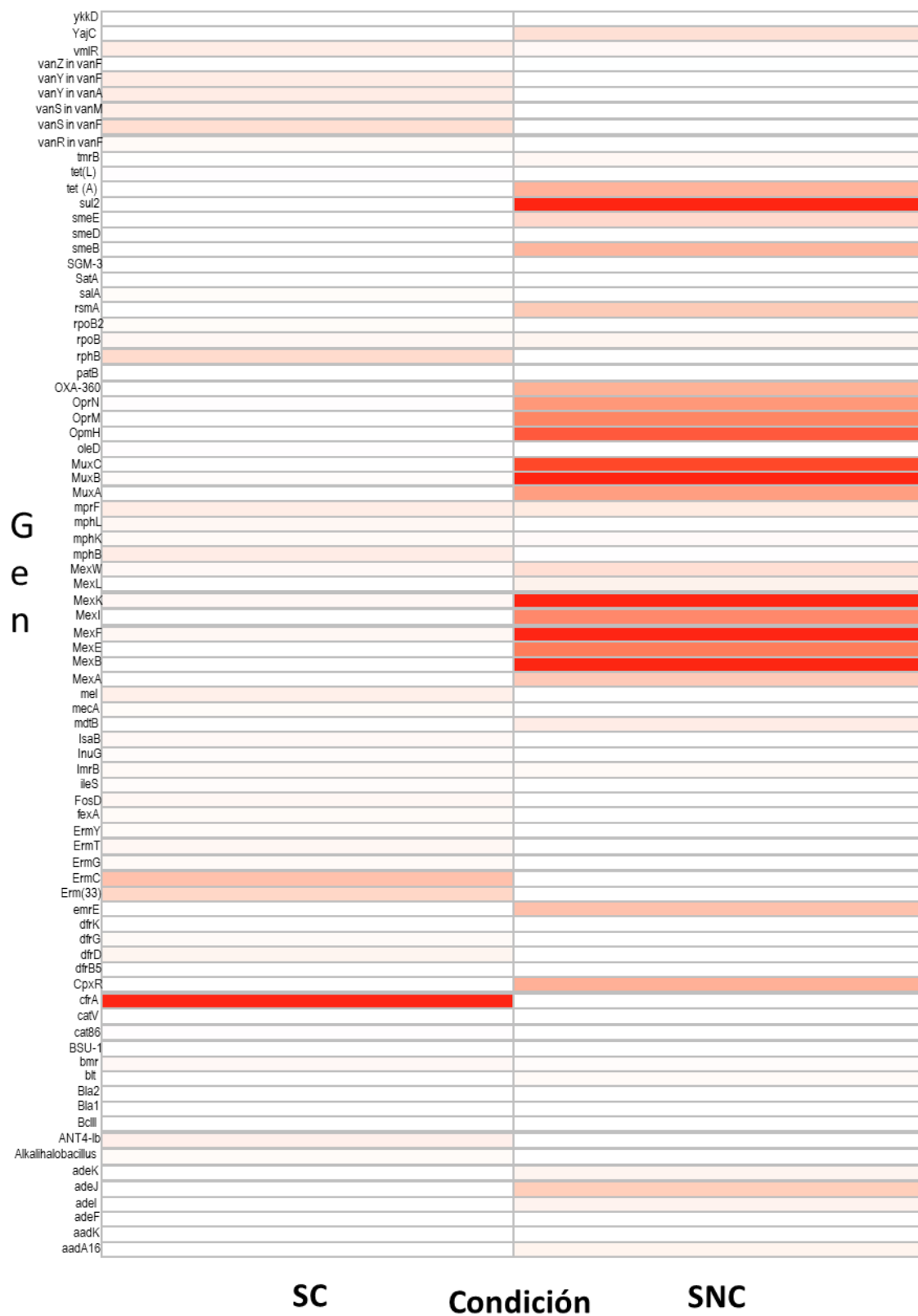


Figura 25. Mapa de calor de genes bacterianas en sueno contaminado (SC) y suelo no contaminado (SNC).

Estos resultados evidencian que la contaminación por lixiviados modifica drásticamente la estructura microbiana del suelo, favoreciendo la proliferación de especies resistentes y aumentando la expresión de genes de resistencia a antibióticos y metales pesados. Esto tiene implicaciones tanto ambientales como de salud pública, ya que la presencia de patógenos resistentes en suelos contaminados representa un riesgo potencial para la diseminación de enfermedades infecciosas, especialmente en áreas cercanas a fuentes de agua o comunidades humanas [230], [231]

El análisis del microbiota del suelo mediante mapas de calor confirma que los suelos contaminados presentan una mayor diversidad de bacterias resistentes, mientras que los suelos no contaminados mantienen una comunidad microbiana más estable y menos especializada.

El análisis de la diversidad microbiana en suelos contaminados es esencial para comprender los mecanismos de biorremediación y desarrollar estrategias eficaces para la recuperación ambiental. En la tabla 13, se comparan diversas especies bacterianas identificadas en suelos afectados por lixiviados y metales pesados, destacando su potencial para la biodegradación de contaminantes.

Tabla 13. Comparación de estudios con diversas especies bacterianas identificadas en suelos afectados por lixiviados y metales pesados

Año de publicación	Tipo de suelo	Bacterias dominantes	Profundidad de muestreo	Contaminante	Capacidad de biorremediación	Resultados	Referencia
2023	Lixiviados de vertederos	<i>Thauera</i> , <i>Truepera</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Paracoccus</i> , <i>Luteimonas</i> y <i>Pusillimonas</i>	No especificado	Metales pesados e hidrocarburos aromáticos.	Capacidad alta de degradación de contaminantes y tratamiento de aguas residuales	Microorganismos esenciales para la detoxificación en lodos activados y digestión anaerobia. Alta eficiencia en remoción de metales en suelos de rellenos sanitarios	[228]
2023	Suelo contaminado con lixiviado	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp	Superficial	Metales pesados (Pb, Zn, Cu, Ni, Cr)	Reducción de metales hasta un 70%		[229]

2023	Soil contaminated with landfill leachate, including heavy metals (Pb, Zn, Cu, Ni, Cr) from Malaysian landfills	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i>	No especificado	Pb, Zn, Cu, Ni, Cr	70% removal for lead and zinc in experimental settings	Éxito de la biorremediación mediante consorcios bacterianos	[230]
2023	Suelo contaminado con lixiviado y metales pesados	Microorganismos indígenas	In Situ	Contaminantes orgánicos	70% de reducción	Biostimulación eficiente mediante remoción de barreras de oxígeno	[231]
2021	Lixiviado industrial y aguas residuales	<i>Bacillus spp.</i>	No especificado	Metales pesados (Hg, As, Cd, Cr, Pb, Zn, Ni, Cu, Mn)	No especificado	Son opciones viables para la biorremediación	[196]
2022	Suelo contaminado con lixiviado de vertedero	<i>Pseudomonas</i>	No especificado	Lixiviados de vertederos (metales pesados y compuestos orgánicos)	Alta degradación de metales pesados y resistencia a contaminantes orgánicos	Aumento de la actividad de deshidrogenasas y disminución de β -glucosidasa.	[202]
2020	Suelo agrícola contaminado con lixiviados industriales	Firmicutes, Proteobacteria	No especificado	Lixiviados industriales (metales pesados y compuestos orgánicos)	Alta capacidad para degradar metales pesados y resistencia a contaminantes	La actividad microbiana disminuye con altos niveles de contaminación, pero mantiene potencial de remediación. La diversidad microbiana estuvo reducida en suelos contaminados con altos niveles de As y Hg; dominancia de <i>Pseudomonas</i>	[232]
2018	Suelo contaminado con lixiviado	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Actinobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i>	Superficial	Arsénico (As) y Mercurio (Hg)	Reducción del 70% de As y Hg		[54]

Los resultados muestran que géneros bacterianos como *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Acinetobacter sp.* y *Firmicutes* han demostrado su potencial en la eliminación de metales pesados y compuestos orgánicos. En particular, los estudios recientes destacan la capacidad de estos microorganismos para degradar contaminantes en diferentes contextos ambientales, con tasas de remoción de hasta un 70% para metales como Pb, Zn, Cu, Ni y Cr en suelos contaminados con lixiviado de vertedero. Estos hallazgos son consistentes con investigaciones previas que han identificado a *Pseudomonas* y *Bacillus* como géneros clave en procesos de biorremediación debido a su capacidad metabólica versátil y su resistencia a condiciones extremas.

Además, se observa que el uso de consorcios bacterianos mejora significativamente la eficiencia de la biorremediación en comparación con cultivos individuales, lo que sugiere una sinergia entre especies para la degradación de contaminantes. En suelos con contaminantes orgánicos, la biostimulación mediante la aplicación de barreras de oxígeno ha permitido una reducción del 70% en los niveles de contaminación, lo que resalta la importancia de estrategias combinadas en la recuperación de suelos.

Otro hallazgo relevante es la identificación de *Bacillus spp.* en el tratamiento de lixiviados industriales, lo que confirma su viabilidad para aplicaciones en biorremediación. Asimismo, la disminución de la actividad microbiana en suelos agrícolas expuestos a contaminantes resalta la necesidad de un monitoreo continuo para optimizar las condiciones de remediación.

Finalmente, el estudio revela la importancia de continuar explorando la diversidad microbiana en suelos contaminados, ya que algunos géneros menos estudiados podrían desempeñar roles clave en la degradación de contaminantes específicos. La identificación de nuevos microorganismos con capacidades biorremediadoras podría complementar el uso de bacterias ampliamente estudiadas como *Pseudomonas* y *Bacillus*, expandiendo las aplicaciones biotecnológicas en la recuperación de ecosistemas impactados por la actividad industrial y la acumulación de lixiviados.

5.8 Bacterias halófilas seleccionadas

En esta sección, se aislaron y caracterizaron morfológicamente nueve cepas bacterianas halófilas sometidas a concentraciones crecientes de cloruro de mercurio (HgCl_2) 50, 100 y 200 $\mu\text{g/ml}$ como se muestra en la figura 26.

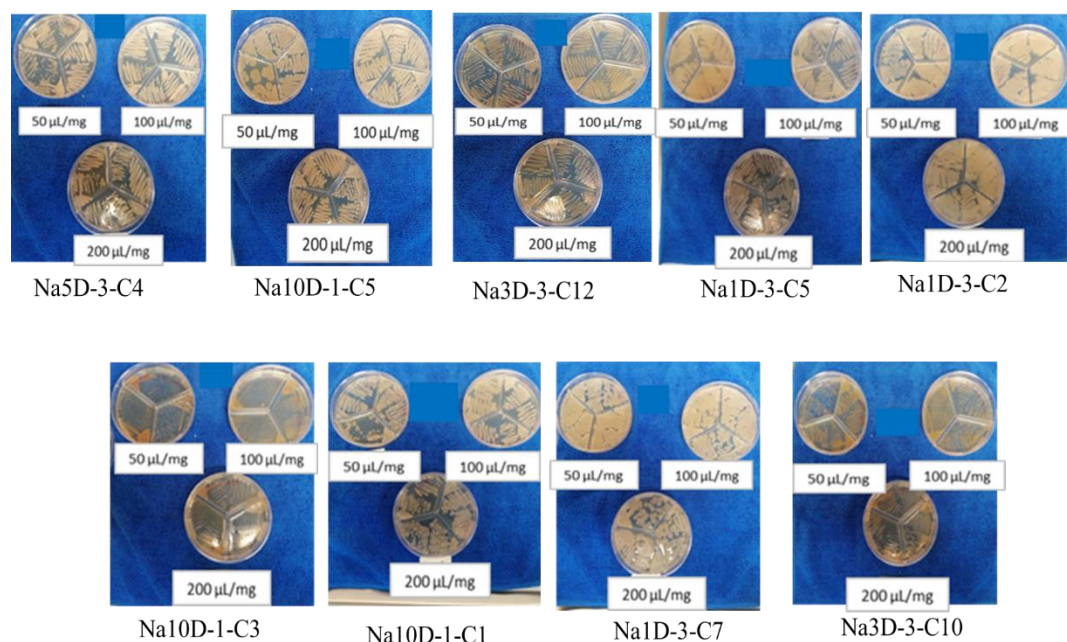


Figura 26. Caracterizaron morfológica de nueve cepas bacterianas halófilas sometidas a concentraciones crecientes de cloruro de mercurio (HgCl_2).

Se identificaron diferencias significativas en el crecimiento, morfología colonial y producción de exopolisacáridos (EPS) entre las distintas cepas evaluadas, el cuál a continuación se presenta en la tabla 14, donde resume las principales características morfológicas observadas en el estudio de estas colonias bacterianas. La descripción de estas características fue esencial para la evaluación y diferenciación de microorganismos en cultivos microbiológicos.

Tabla 14. Características morfológicas de colonias bacterianas

Característica	Descripción
Forma de la Colonia (Vista desde arriba)	
Circular	Colonia con bordes redondeados y bien definidos.

Irregular	Bordes no definidos, con formas asimétricas.
Filamentosa	Presenta filamentos que se extienden desde el centro, como hilos o raíces.
Rizoide	Similar a la filamentosa, pero con proyecciones más gruesas y ramificadas.
Puntiforme	Colonias muy pequeñas, de menos de 1 mm de diámetro.
Elevación (Vista de perfil)	
Plana	Sin elevación, se encuentra al nivel del medio de cultivo.
Convexa	Ligera elevación en forma de cúpula suave.
Umbonada	Elevada en el centro, como una montaña con un pico.
Pulvinada	Similar a la convexa, pero más elevada y en forma de almohadilla.
Cóncava	Hundida en el centro, formando un cráter.
Borde de la Colonia	
Entero	Liso y bien definido, sin irregularidades.
Lobulado	Con proyecciones redondeadas como lóbulos.
Filamentoso	Con prolongaciones delgadas, parecidas a filamentos.
Rizado	Con ondulaciones suaves en los bordes.
Dentado	Con picos y protuberancias pequeñas, parecido a dientes de sierra.
Textura (Sensación al tacto con ansa estéril)	
Lisa	Superficie uniforme y sin irregularidades.
Rugosa	Con relieve irregular, como pequeñas grietas o arrugas.
Mucoide	Aspecto viscoso, brillante y pegajoso, generalmente asociado a biopelículas.
Seca	Superficie opaca y quebradiza, sin apariencia húmeda.
Coloración (Bajo luz normal)	
Blanca	Sin pigmentación.
Amarilla	Puede indicar presencia de carotenoides.
Naranja/Rojiza	Característica de algunas bacterias pigmentadas.
Verde	Posible producción de pigmentos como la pioceanina.
Negra/Marrón	Puede indicar producción de melanina o resistencia a condiciones adversas.
Adherencia al medio	
Baja	Colonias fácilmente desprendibles.
Media	Colonias parcialmente adheridas, con formación incipiente de biopelícula.
Alta	Colonias fuertemente adheridas, indicando biofilm maduro.

Las colonias presentaron variabilidad en su tamaño, forma, elevación, bordes, textura y coloración, como se observa en la tabla 15. La mayoría de las cepas exhibieron una textura mucoide, indicando una posible producción de EPS, lo cual es característico de bacterias con mecanismos de resistencia a metales pesados. Entre las cepas más relevantes, Na10D-1C5 y

Na10D-1C2 presentaron colonias filamentosas y pulvinadas, con bordes rizados y textura mucoide, mientras que Na1D-3C5 se caracterizó por una elevación umbonada y una coloración beige-marrón, sugiriendo la producción de pigmentos relacionados con el metabolismo del mercurio.

En cuanto a la adherencia al medio, se observó que cepas como Na1D-3C5 y Na10D-1C5 mostraron una alta adherencia y una abundancia extremadamente elevada en todas las concentraciones de HgCl_2 , lo que sugiere una gran tolerancia y biotransformación del metal. La coloración de las colonias varió desde beige claro hasta naranja-marrón, lo que indica estar relacionado con la producción de pigmentos protectores contra el estrés oxidativo inducido por el mercurio.

Tabla 15. Resultado de la caracterización morfológica de las cepas seleccionadas.

Clave	Tamaño de colonias	Forma	Elevación	Bordes	Textura	Coloración	Abundancia	Adherencia al medio	Concentración de HgCl_2 ($\mu\text{g/L}$)
Na5D-3-C4	1.5 mm	Circular	Convexa	Entero	Mucoide	beige claro	Media-alta	Media	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$
Na10D-1-C5	4 mm	Irregular	Pulvinada	Rizado	Mucoide	beige oscuro	Alta	Alta	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$
Na3D-3-C12	1.5 mm	Puntiforme	Plana	Lobulado	Lisa	Beige oscuro	Alta	Alta	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$
Na1D-3-C5	3mm	Irregular	Umbonada	Lobulado	Mucoide	Beige-marrón	Extremadamente alto	Alta	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$
Na1D-3-C2	4mm	Filamentosa	Pulvinada	Filamentoso	Mucoide	Beige claro	Extremadamente alto	Alta	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$
Na10D-1-C3	0.5 mm	Circular	Plana	Entero	Lisa	Naranja-Marrón	Alta	Alta	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$
Na10D-1-C1	2 mm	Circular	Pulvinada	Rizado	Mucoide	Beige claro	Alta	Alta	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$
Na1D-3-C7	3mm	Irregular	Pulvinada	Lobulado	Seca	beige oscuro	Alta	Alta	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$
Na3D-3-C10	0.3 mm	Puntiforme	Plana	Entero	Lisa	beige-marrón	Media-alta	Alta	50 $\mu\text{g/mL}$
									100 $\mu\text{g/mL}$
									200 $\mu\text{g/mL}$

Estos resultados sugieren que las cepas evaluadas poseen mecanismos de adaptación al mercurio mediante la síntesis de EPS y la formación de biofilms. La producción de exopolisacáridos ha sido reportada como un mecanismo clave en la resistencia bacteriana a metales pesados, debido a su capacidad de quelación y de exclusión del metal en el entorno extracelular [233]. La alta adherencia al medio observada en varias cepas refuerza la hipótesis de que estos microorganismos pueden formar biofilms, una estrategia ampliamente documentada en bacterias halófilas expuestas a ambientes extremos [234] .

Las bacterias resistentes a metales pesados emplean varios mecanismos para tolerar la toxicidad del mercurio, incluyendo la producción de enzimas mercuriorreductasas (*MerA*), sistemas de transporte para la exclusión del metal y la producción de pigmentos antioxidantes [235], [236]. La presencia de tonalidades beige-marrón y beige-naranja en las colonias sugiere la producción de pigmentos como carotenoides y melaninas, los cuales desempeñan un papel protector contra el estrés oxidativo generado por especies reactivas de oxígeno (ROS) inducidas por el mercurio [237], [238].

La morfología colonial también aportó información relevante sobre la adaptabilidad de las cepas. La presencia de colonias filamentosas y rizadas en Na10D-1C5 y Na10D-1C2 sugiere una mayor interacción celular y una estrategia cooperativa para resistir el estrés ambiental. Estudios previos han demostrado que la transición de colonias lisas a rugosas está asociada con la resistencia al mercurio en bacterias ambientales [239]

En general, los resultados de este estudio confirman que las bacterias halófilas poseen una alta plasticidad fenotípica y pueden desarrollar estrategias eficientes para tolerar metales pesados. Este conocimiento es crucial para la aplicación de estas cepas en procesos de biorremediación de ambientes contaminados con mercurio, donde la producción de EPS y la formación de biofilms podrían desempeñar un papel clave en la inmovilización y biotransformación del metal.

5.9 Resultados de eficiencia de biorremediación en cada uno de los tratamientos

Para determinar de manera objetiva los resultados de la eficiencia de biorremediación en cada uno de los tratamientos que se mencionó con anterioridad: suelo estéril sin inóculo (SE(-)), suelo estéril con inóculo (SE(+)), suelo contaminado sin inóculo (SC(-)) y Suelo contaminado con inóculo (SC(+)), se analizaron las propiedades fisicoquímicas,

microbiológicas y la determinación de mercurio y arsénico así también se realizaron comparaciones entre parámetros para una mejor comprensión del procedimiento de biorremediación a lo largo de un periodo de 30 días de los cuatro tratamientos, el cual se llevaron a cabo por duplicado.

5.9.1. Nitrógeno (N)

El nitrógeno es un macronutriente esencial para el desarrollo de los ecosistemas terrestres, ya que participa en procesos clave como la síntesis de proteínas y la actividad enzimática de los microorganismos. En suelos contaminados, su dinámica se ve alterada debido a la toxicidad de los compuestos presentes, lo que afecta la disponibilidad de nitrógeno para los organismos del suelo [240]. Evaluar la transformación del nitrógeno a lo largo del tiempo permite comprender el impacto de la contaminación y la efectividad de estrategias de biorremediación, como la inoculación de microorganismos especializados como se muestra a continuación.

El monitoreo del nitrógeno se realizó diariamente en una zona esterilizada para evitar contaminación cruzada. La figura 27 muestra la evolución del contenido de nitrógeno (mg/kg) en los distintos tratamientos a lo largo de 30 días.

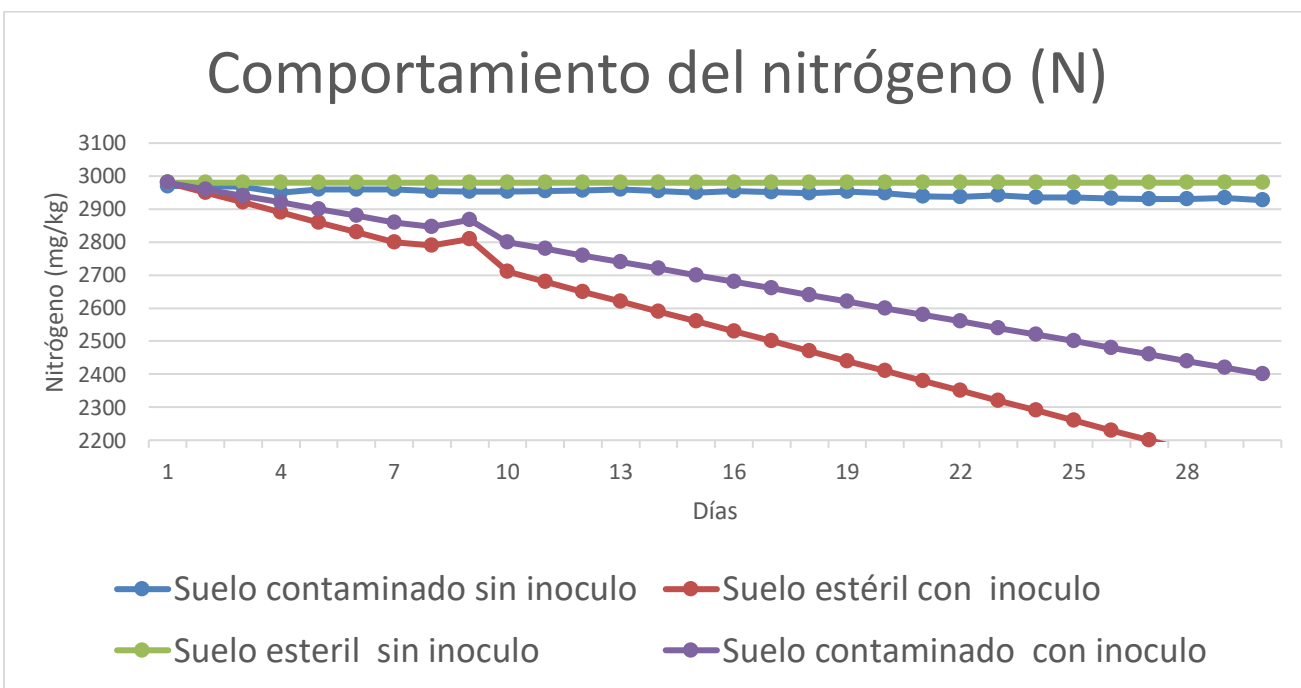


Figura 27. Resultado comparativo del nitrógeno en suelos experimentales.

En el tratamiento SC (-) (suelo contaminado sin inóculo), la concentración de nitrógeno

se mantiene relativamente estable, lo que indica una baja actividad microbiana y una limitada transformación de este nutriente. Esto sugiere que la microbiota nativa en suelos contaminados puede estar afectada por la toxicidad del ambiente, reduciendo su capacidad para metabolizar compuestos nitrogenados.

Por otro lado, en el tratamiento SE (+) (suelo estéril con inóculo) se observa una disminución pronunciada en la concentración de nitrógeno, lo que indica una mayor actividad biológica debido a la acción de los microorganismos inoculados. Estos microorganismos favorecen la transformación y asimilación del nitrógeno, maximizando su biodisponibilidad en el sistema.

En el tratamiento SE (-) (suelo estéril sin inóculo), el nivel de nitrógeno permanece prácticamente constante a lo largo del tiempo, lo que confirma que, en ausencia de microorganismos, no se producen cambios significativos en la dinámica de este elemento.

Finalmente, en el tratamiento SC (+) (suelo contaminado con inóculo), la disminución de nitrógeno es evidente, aunque a un ritmo inferior al observado en SE (+). Esto sugiere que la combinación de microorganismos inoculados con la materia orgánica presente en el suelo contaminado facilita la transformación del nitrógeno, pero la presencia de contaminantes puede limitar la eficiencia del proceso.

Estos resultados evidencian que la inoculación de microorganismos específicos mejoran la biorremediación de suelos contaminados al favorecer la transformación del nitrógeno. La diferencia en las tasas de degradación entre SE (+) y SC (+) destaca la influencia de los contaminantes en la eficiencia del proceso biológico.

Estudios recientes han reportado hallazgos similares. Por ejemplo, investigaciones realizadas entre 2018 y 2024 han demostrado que la bioestimulación con bacterias fijadoras de nitrógeno y otros microorganismos especializados incrementa la degradación de contaminantes y mejora la fertilidad del suelo. Estudios [241], [242] encontraron que la inoculación con cepas bacterianas específicas mejoró la biodisponibilidad del nitrógeno en suelos contaminados con metales pesados, lo que coincide con la tendencia observada en SC (+). Asimismo, investigaciones como las de [243] han reportado que la bioaumentación en suelos afectados por hidrocarburos favorece la mineralización de nitrógeno, lo que se asemeja a los resultados obtenidos en SE (+).

Estos hallazgos tienen implicaciones significativas en la recuperación de suelos

degradados, ya que el manejo adecuado de la microbiota del suelo puede optimizar procesos de biorremediación en ambientes contaminados. Además, resaltan la importancia de seleccionar consorcios microbianos adaptados a condiciones adversas para maximizar la eficiencia del tratamiento.

5.9.2. Fósforo (P)

El fósforo es un macronutriente esencial para el metabolismo de los microorganismos, ya que participa en la síntesis de ácidos nucleicos, la producción de ATP (Adenosín Trifosfato), es una molécula fundamental en los organismos vivos, ya que actúa como la principal fuente de energía para los procesos celulares [244]. Está compuesta por una base nitrogenada (adenina), un azúcar (ribosa) y tres grupos fosfato, y la activación enzimática. En suelos contaminados, su disponibilidad puede verse afectada por la interacción con metales pesados, procesos de precipitación y la actividad biológica del microbioma del suelo. La liberación y asimilación de fósforo en tratamientos de biorremediación es un indicador clave de la eficiencia del proceso, ya que su transformación depende de la actividad de bacterias especializadas y la biodisponibilidad de compuestos orgánicos e inorgánicos.

La gráfica 28 que a continuación se presenta, muestra la evolución del contenido de fósforo (mg/kg) en los cuatro tratamientos experimentales a lo largo de 30 días.

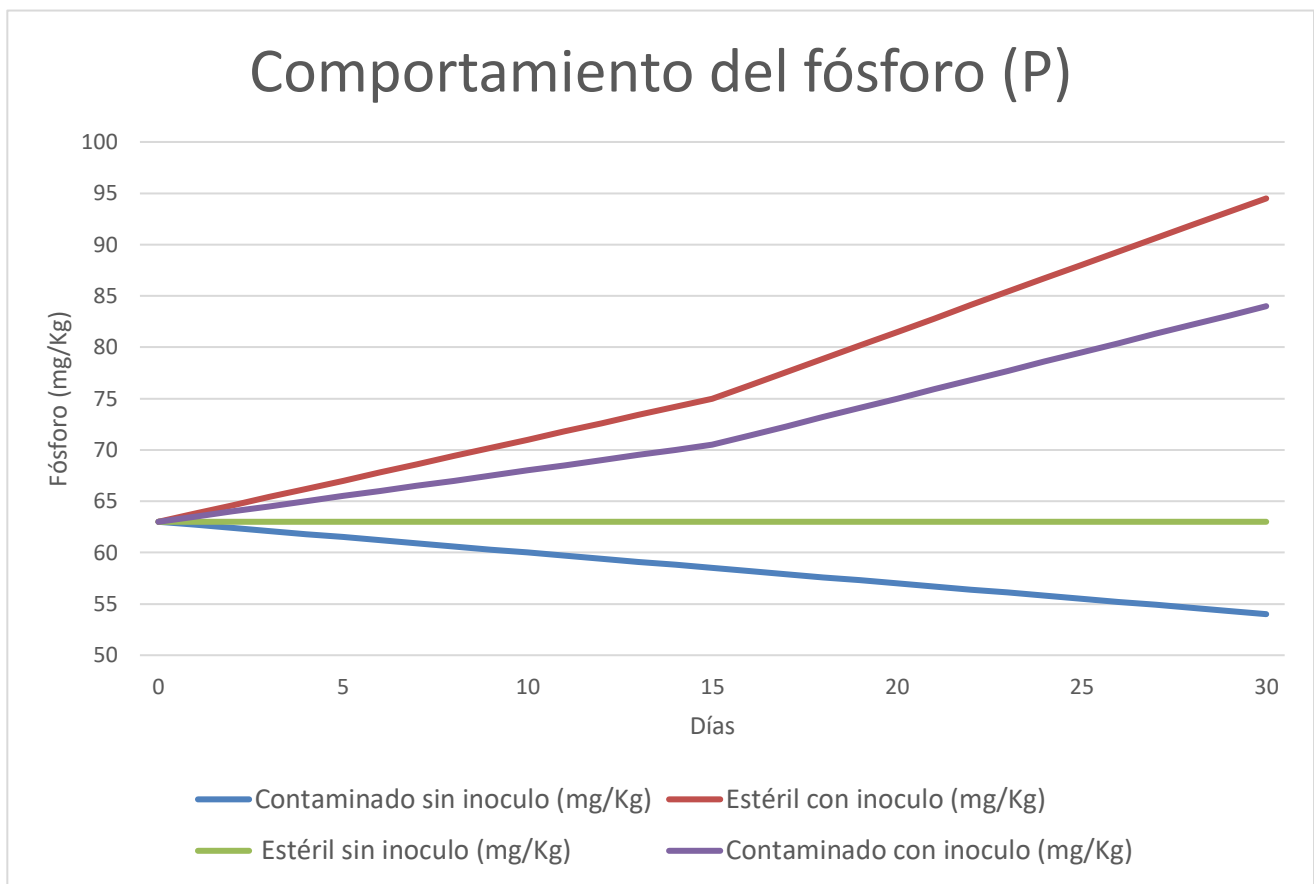


Figura 28. Resultado comparativo del fósforo en suelos experimentales

Se observan tendencias diferenciadas en función de la presencia de inóculo y la contaminación del suelo. SC (-) (Suelo contaminado sin inóculo), se observa una leve disminución en la concentración de fósforo a lo largo del tiempo, lo que sugiere su absorción por bacterias nativas y posibles procesos de fijación con metales pesados presentes en el suelo contaminado. SE (+) (Suelo estéril con inóculo), se registra un incremento progresivo del fósforo, con un aumento más pronunciado a partir del día 15, lo que podría deberse a la actividad metabólica de las bacterias halófilas inoculadas y su capacidad para solubilizar fosfatos. SE (-) (Suelo estéril sin inóculo), la concentración de fósforo se mantiene estable, lo que indica la ausencia de actividad biológica significativa y la falta de procesos de mineralización o movilización de este elemento. SC (+) (Suelo contaminado con inóculo), se observa un incremento moderado del fósforo, atribuible a la acción combinada de las bacterias halófilas inoculadas y la liberación natural de fósforo en el suelo contaminado.

Estos resultados reflejan la importancia de la inoculación microbiana en la movilización

del fósforo en suelos contaminados. La disminución observada en SC (-) es consistente con estudios previos que han demostrado que los metales pesados inducen la inmovilización del fósforo en el suelo debido a su interacción con óxidos metálicos y complejos de materia orgánica [245]. Además, la baja actividad biológica en ausencia de inóculo limita la liberación de fósforo, lo que explica la estabilidad observada en SE (-).

Por otro lado, el aumento del fósforo en SE (+) y SC (+) sugiere una activación de mecanismos biológicos clave, como la solubilización de fosfatos y la mineralización de compuestos orgánicos, procesos que han sido reportados en estudios recientes. Por ejemplo, encontraron que la inoculación con bacterias solubilizadoras de fosfato en suelos contaminados incrementó la biodisponibilidad de este nutriente en un 30 %, favoreciendo la recuperación de la actividad biológica del suelo. Asimismo, investigaciones de [246], [247] han demostrado que los microorganismos halófilos desempeñan un papel clave en la estabilización de fosfatos en suelos afectados por hidrocarburos, lo que coincide con la tendencia observada en este estudio.

En el tratamiento SC (+), aunque se observa un incremento del fósforo, la tasa de aumento es menor en comparación con SE (+). Esto sugiere que la presencia de contaminantes afecta la eficiencia del proceso, ya sea mediante la toxicidad directa sobre los microorganismos o por la formación de complejos insolubles entre los contaminantes y el fósforo. Estudios recientes han señalado que ciertos metales pesados pueden reducir la actividad de fosfatasas microbianas, lo que podría explicar la menor liberación de fósforo en SC (+) respecto a SE (+) [248].

5.9.3. Potasio (K)

El potasio es un macronutriente esencial para el crecimiento y metabolismo de los microorganismos del suelo, ya que participa en la regulación osmótica, la actividad enzimática y la transducción de señales celulares [249]. En el contexto de la biorremediación, el comportamiento del potasio en suelos contaminados y tratados con microorganismos propórcionan información clave sobre la interacción entre las bacterias halófilas y el ambiente, especialmente en suelos con alto contenido de sales o contaminantes metálicos [250]. A continuación, se muestra la figura 29, donde revela el comportamiento de cada tratamiento realizado.

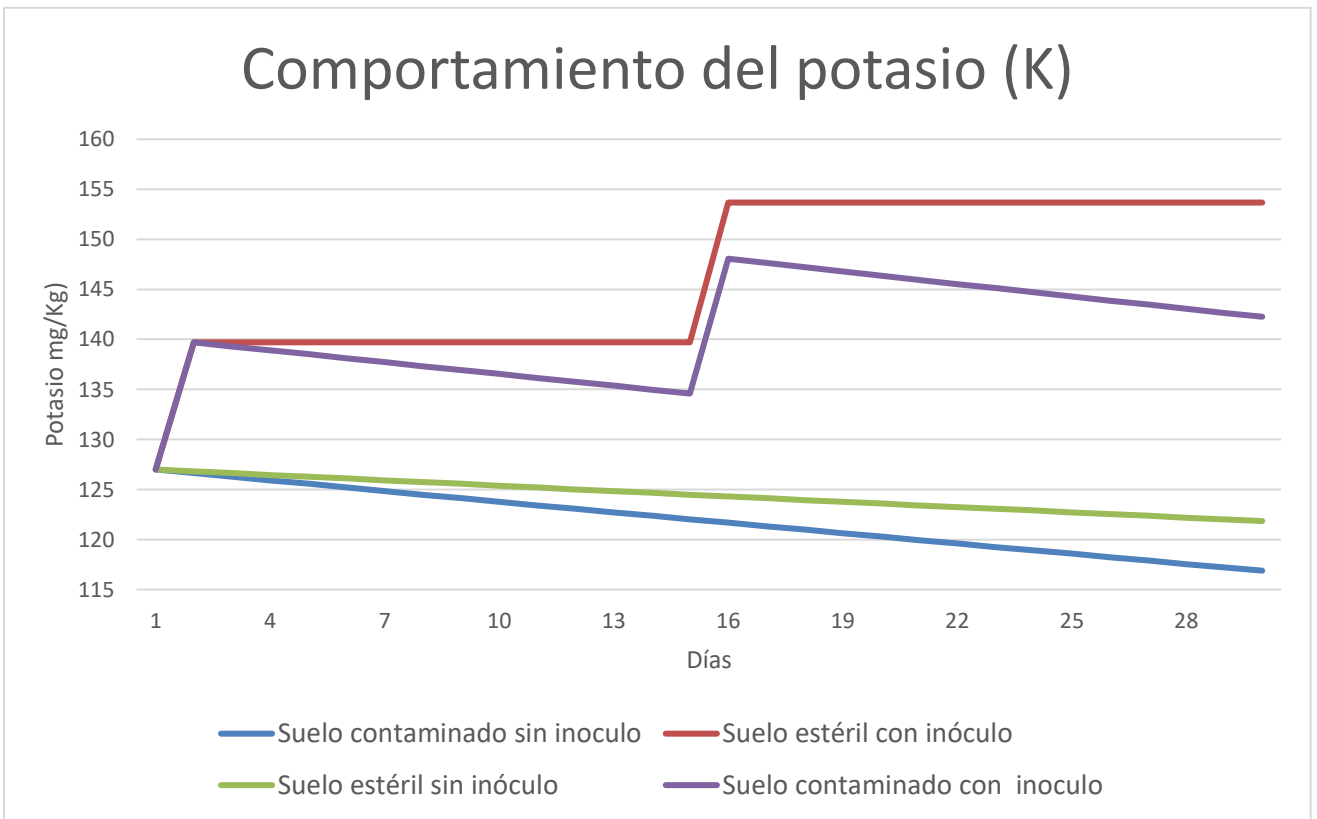


Figura 29. Resultado comparativo del potasio en suelos experimentales.

En el suelo contaminado sin inóculo (SC -), se observa una disminución progresiva del potasio a lo largo del tiempo. Esta tendencia es consistente con la lixiviación continua y la ausencia de actividad microbiana significativa que pueda reponer los niveles de potasio. En el Suelo estéril con inóculo (SE +), presenta un incremento notable del potasio tras cada inoculación (días 1 y 15). Este fenómeno se explica por la actividad metabólica de las bacterias halófilas, que liberan potasio al medio como parte de sus mecanismos de regulación osmótica [251]. Posteriormente, la concentración de potasio se estabiliza. En el Suelo estéril sin inóculo (SE -), la concentración de potasio se mantiene relativamente constante con ligeras disminuciones a lo largo del tiempo, probablemente debido a la lixiviación, ya que no hay actividad biológica que contribuya a la reposición del nutriente. Y finalmente en el Suelo contaminado con inóculo (SC +), muestra un comportamiento similar al SE (+), con incrementos tras la inoculación. Sin embargo, la dinámica es más compleja debido a la

interacción entre las bacterias nativas y las halófilas introducidas. Hacia el final del experimento, se observa una leve disminución, lo que podría indicar efectos de la contaminación o de la salinidad en la disponibilidad del potasio.

Estos resultados evidencian que la inoculación de bacterias halófilas influye en la concentración de potasio en el suelo, especialmente en condiciones contaminadas. La disminución observada en SC (-) y SE (-) sugiere que la lixiviación es un factor determinante en la pérdida de potasio en suelos sin actividad biológica significativa.

El incremento del potasio en SE (+) y SC (+) tras la inoculación indica que las bacterias halófilas movilizaron al potasio en el ambiente a través de mecanismos de resistencia a la salinidad, como la acumulación intracelular de iones K^+ para mantener el equilibrio osmótico [252], [253].

Además, la estabilización de los niveles de potasio tras los picos iniciales en SE (+) sugiere que las bacterias alcanzan un estado de equilibrio en el que la liberación y absorción de potasio se compensan. En SC (+), la leve disminución al final podría deberse a la interacción entre microorganismos nativos y halófilos, lo que podría generar una competencia por nutrientes y afectar la liberación de potasio [254].

Estos hallazgos concuerdan con estudios previos que han demostrado que los microorganismos halófilos modifican la disponibilidad de elementos esenciales en suelos contaminados, contribuyendo a su estabilización y biorremediación ([27], [30].

5.9.4. Conductividad Eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica (CE) es un parámetro clave en el estudio de la dinámica del suelo, ya que refleja la concentración de sales solubles y la actividad de los microorganismos en los procesos biogeoquímicos. En suelos contaminados con metales pesados, la CE puede estar influenciada por la interacción entre las bacterias halófilas y los iones presentes en el medio, afectando la disponibilidad de nutrientes y la eficiencia de la biorremediación ([44], [255].

En la figura 30, muestra el resultado del comportamiento de cada tratamiento a lo largo de 30 días. En el suelo contaminado sin inóculo (SC -), se observa una disminución progresiva de la CE con el tiempo. Esto es consistente con la pérdida gradual de sales solubles sin reposición, debido a la ausencia de actividad microbiana significativa. En el suelo estéril con

inóculo (SE +), se presenta un aumento en la CE en los días de inoculación (días 1 y 15). Este incremento se atribuye a la actividad metabólica de las bacterias halófilas, que liberan sales al medio como parte de sus mecanismos de regulación osmótica [253]. Posteriormente, la CE muestra una tendencia descendente más estable. En el suelo estéril sin inóculo (SE -), la CE disminuye de manera continua, reflejando la pérdida de sales solubles sin reposición por microorganismos. Esto indica un proceso de lixiviación sin interacción biológica significativa. Y en el suelo contaminado con inóculo (SC +), presenta un comportamiento dinámico con incrementos en los días de inoculación y un descenso más lento en comparación con SC (-). Esto sugiere que la interacción entre las bacterias nativas y las halófilas introducidas juega un papel importante en la regulación de la CE.

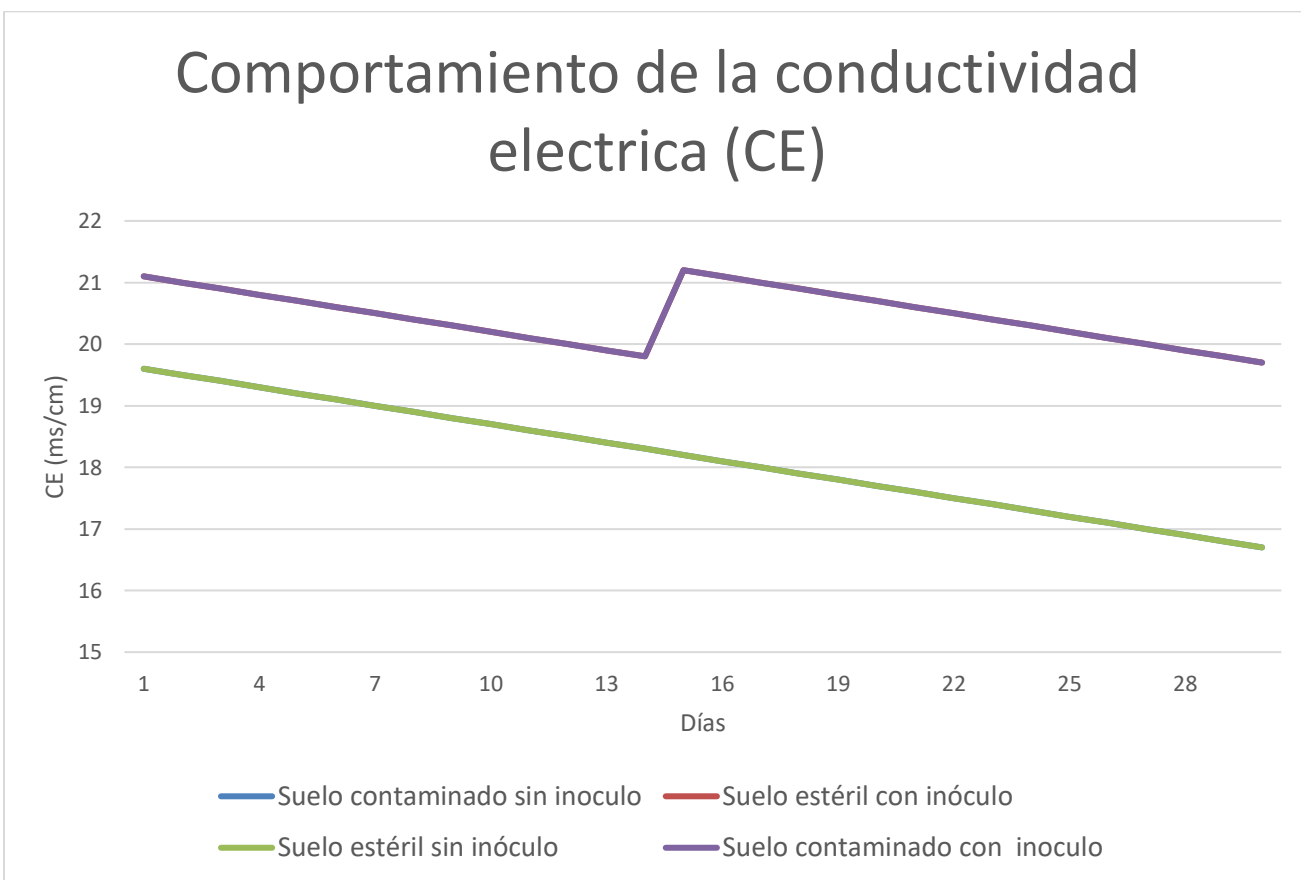


Figura 30. Resultado comparativo de la conductividad eléctrica en suelos experimentales.

5.9.5. Materia Orgánica (MO)

La figura 31 muestra el comportamiento de la materia orgánica (MO) en los cuatro diferentes tratamientos experimentales. El Suelo contaminado sin inóculo (SC -), representado por la línea azul, muestra una reducción moderada de la MO. Mientras que en el Suelo estéril con inóculo (SE +), representado por la línea marrón, presenta una disminución pronunciada en la MO. En el suelo estéril sin inóculo (SE -), Representado por la línea verde, mantiene niveles estables de MO. Y finalmente en el suelo contaminado con inóculo (SC +), Representado por la línea morada, exhibe una degradación significativa de la MO, pero menos acentuada que en SE (+).

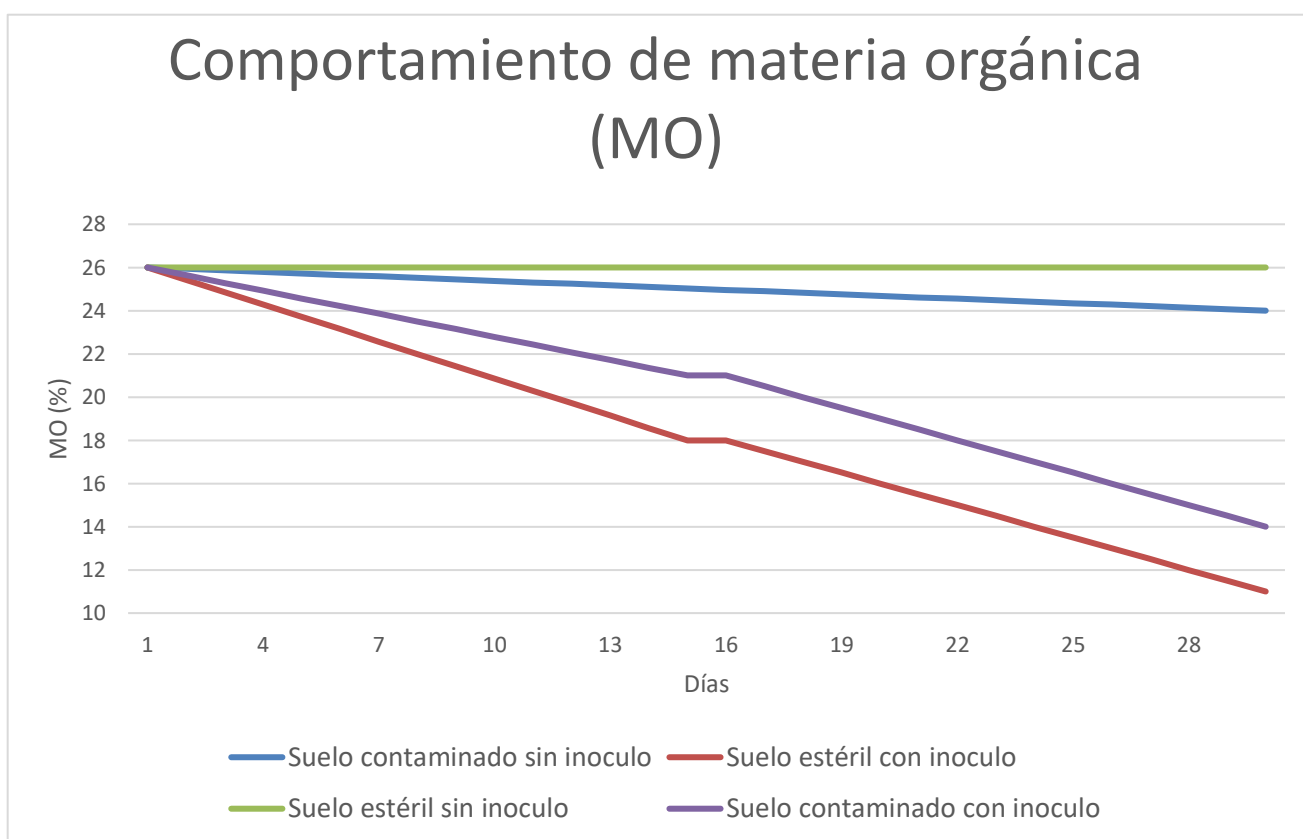


Figura 31. Resultado comparativo de la materia orgánica en suelos experimentales.

El suelo estéril sin inóculo (SE -) mantiene su contenido de MO casi inalterado debido a la ausencia de actividad microbiana. Por otro lado, el suelo estéril con inóculo (SE +) muestra una rápida degradación de MO, lo que indica que la inoculación con microorganismos adecuados aceleran la descomposición de materia orgánica, incluso en ambientes inicialmente estériles.

En el suelo contaminado sin inóculo (SC -), la reducción de la MO ocurre lentamente, lo que sugiere que la comunidad microbiana nativa es capaz de degradarla, aunque a un ritmo más lento debido a las condiciones adversas como la salinidad y la presencia de contaminantes. Finalmente, el suelo contaminado con inóculo (SC +) presenta una degradación más acelerada de MO en comparación con SC (-), lo que indica que la inoculación favorece la actividad biológica y potencia la transformación de la MO en compuestos más simples.

La materia orgánica es un parámetro clave en la calidad del suelo, ya que proporciona nutrientes esenciales y actúa como fuente de energía para los microorganismos. Su degradación es un proceso biológico mediado principalmente por bacterias y hongos, cuya actividad depende de factores como la disponibilidad de oxígeno, la humedad y la composición química del suelo [200], [256]

Los resultados muestran que la inoculación con microorganismos en un ambiente estéril (SE +) facilita la descomposición de la MO, lo que concuerda con estudios previos que destacan el papel de cepas como *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas* spp. en la degradación de compuestos orgánicos en suelos contaminados [44]. Estos microorganismos producen enzimas hidrolíticas que descomponen macromoléculas orgánicas en compuestos más simples, mejorando la disponibilidad de nutrientes y favoreciendo la restauración del suelo [257].

Por otro lado, la menor degradación de MO en SC (-) indica que los microorganismos nativos toleran condiciones adversas como la salinidad, pero su actividad es limitada en comparación con cepas adaptadas o halófilas. Esto coincide con investigaciones que reportan cómo los ambientes contaminados afectan negativamente la biodiversidad microbiana y reducen la eficiencia de los procesos de biodegradación [63], [210].

En SC (+), la interacción entre los microorganismos nativos y los inoculados genera una sinergia que promueve la descomposición de la MO, mediante la producción de metabolitos secundarios que facilitan la degradación de compuestos orgánicos complejos [108], [200], [258]. Este fenómeno ha sido reportado en estudios sobre biorremediación, donde la co-cultivación de microorganismos nativos e inoculados mejora la mineralización de contaminantes y la recuperación del suelo [62], [243]

En general, estos resultados destacan la importancia de la bioaumentación en el

tratamiento de suelos contaminados, al demostrar que la introducción de cepas específicas acelerando la degradación de la MO y mejoran las propiedades del suelo. La combinación de microorganismos autóctonos con especies adaptadas puede ser una estrategia efectiva para la restauración de suelos afectados por lixiviados de vertederos, contribuyendo a una gestión más sostenible de los residuos sólidos urbanos.

5.9. 6. pH

En los experimentos realizados, el pH de las muestras de suelo se mantuvo constante en 7.96 ± 0.5 , con el objetivo de replicar las condiciones del vertedero original. Esta estabilización del pH se logró mediante la adición controlada de agentes buffer y la monitorización regular, asegurando que las variaciones se mantuvieran dentro del margen establecido.

El pH del suelo es un factor determinante en la composición y actividad de la microbiota. Influye en la disponibilidad de nutrientes esenciales y en la actividad enzimática de los microorganismos. Valores de pH entre 6.0 y 7.5 son óptimos para el crecimiento de la mayoría de los cultivos y la actividad microbiana[259].

Un pH cercano a la neutralidad, como el utilizado en este estudio, favorece la solubilidad de nutrientes clave como el fósforo, el nitrógeno y el potasio, elementos esenciales para el metabolismo microbiano. Además, un pH neutro minimiza la toxicidad de metales pesados, que puede incrementarse en suelos ácidos, afectando negativamente a la microbiota [260].

Mantener un pH constante en 7.96 ± 0.5 permitió evaluar de manera precisa la influencia de otros factores experimentales en la actividad microbiana y los procesos de biorremediación. Este control del pH aseguró que las diferencias observadas en los tratamientos fueran atribuibles a las variables estudiadas y no a fluctuaciones en la acidez o alcalinidad del suelo.

Estudios recientes han demostrado que el pH del suelo es un factor clave en la estructura y función de las comunidades microbianas. Por ejemplo, una investigación publicada [260] encontró que variaciones en el pH afectan la diversidad microbiana y la eficiencia en la descomposición de materia orgánica. Asimismo, estudios [261], [262] destacaron que el pH influye en la disponibilidad de nutrientes y en la actividad enzimática del suelo, afectando procesos como la nitrificación y la mineralización del carbono.

En el contexto de la biorremediación, mantener un pH óptimo es esencial para maximizar la actividad de las bacterias inoculadas y nativas. Un pH cercano a la neutralidad facilita la degradación de contaminantes y la recuperación de la calidad del suelo. Por lo tanto, el control del pH en los experimentos fue una decisión fundamentada para asegurar condiciones favorables para la microbiota y obtener resultados confiables en los procesos de biorremediación evaluados.

5.9.7. Humedad

La humedad del suelo afecta directamente la actividad microbiana, ya que el agua es fundamental para los procesos metabólicos de los microorganismos. Además, facilita el transporte de nutrientes y la eliminación de desechos, creando un entorno favorable para el crecimiento bacteriano [263]. De acuerdo con los resultados fisicoquímicos obtenidos en el vertedero original, la humedad del suelo experimental se mantuvo en un rango de $22.67\% \pm 5\%$, asegurando condiciones similares a las del ecosistema original.

En el contexto de este estudio, mantener la humedad en el rango determinado permitió evaluar de manera precisa el impacto de las bacterias inoculadas en la biorremediación del suelo. La estabilidad de la humedad garantizó que las diferencias observadas en la actividad microbiana y en la degradación de contaminantes fueran atribuibles a las variables experimentales y no a fluctuaciones en la disponibilidad de agua. Investigaciones previas han demostrado que la humedad del suelo es un factor determinante en la actividad de las bacterias halófilas y su capacidad para participar en procesos de biorremediación. Un estudio de [264] reportó que niveles de humedad adecuados favorecen la proliferación de bacterias halófilas y su interacción con los contaminantes, mejorando la eficiencia de biodegradación en suelos impactados por metales pesados. Asimismo, [265] destacaron que mantener la humedad en un rango estable previene la desecación de las células bacterianas y permite una mayor adaptación de los microorganismos al entorno del suelo. Además, la humedad influye en la disponibilidad de nutrientes y en la estructura del suelo, factores que afectan directamente la proliferación de microorganismos. [266] indicaron que la actividad microbiana es un indicador clave del estado general del suelo y que una actividad óptima se observa cuando las condiciones de humedad, temperatura y pH se mantienen dentro de rangos específicos.

Mantener la humedad en $22.67\% \pm 5\%$ en los experimentos permitió replicar fielmente las condiciones del vertedero original, asegurando que los resultados obtenidos fueran representativos y científicamente comparables con estudios previos en biorremediación.

5.9.8. Resultados de monitoreo microbiológico

El monitoreo microbiológico fue esencial en este estudio de biorremediación, ya que permitió evaluar la dinámica poblacional de los microorganismos involucrados y su eficacia en la degradación de contaminantes. En este estudio, se realizaron recuentos de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) cada 8 días, sembrando muestras de suelo en agar TSA. A continuación, se presentan la figura 32 y figura 33 reflejan la comparativa de crecimiento bacteriano de cada experimentación del día 8 y del día 30.

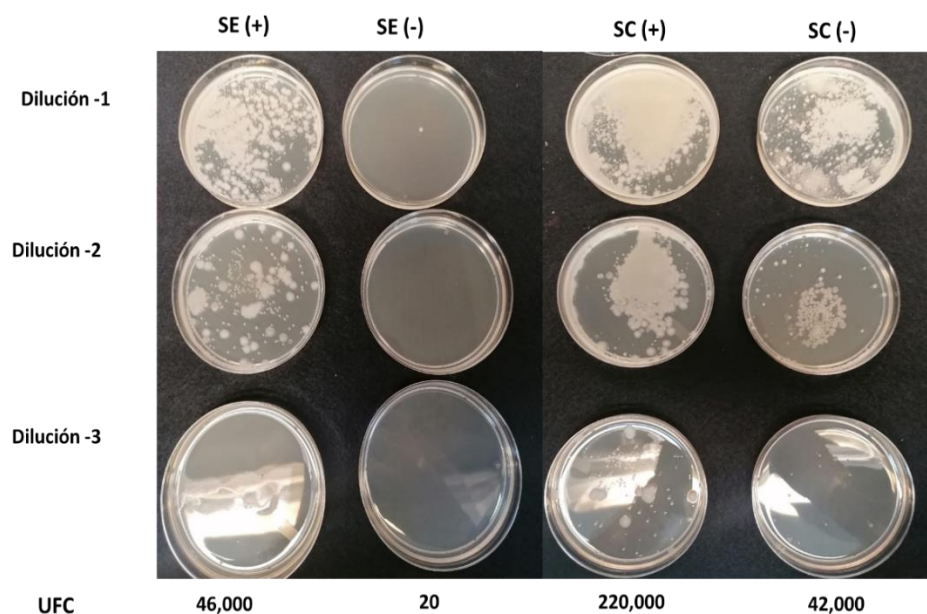


Figura 32. Resultado de crecimiento bacteriano a los 8 días de inoculación en los cuatro suelos experimentales.

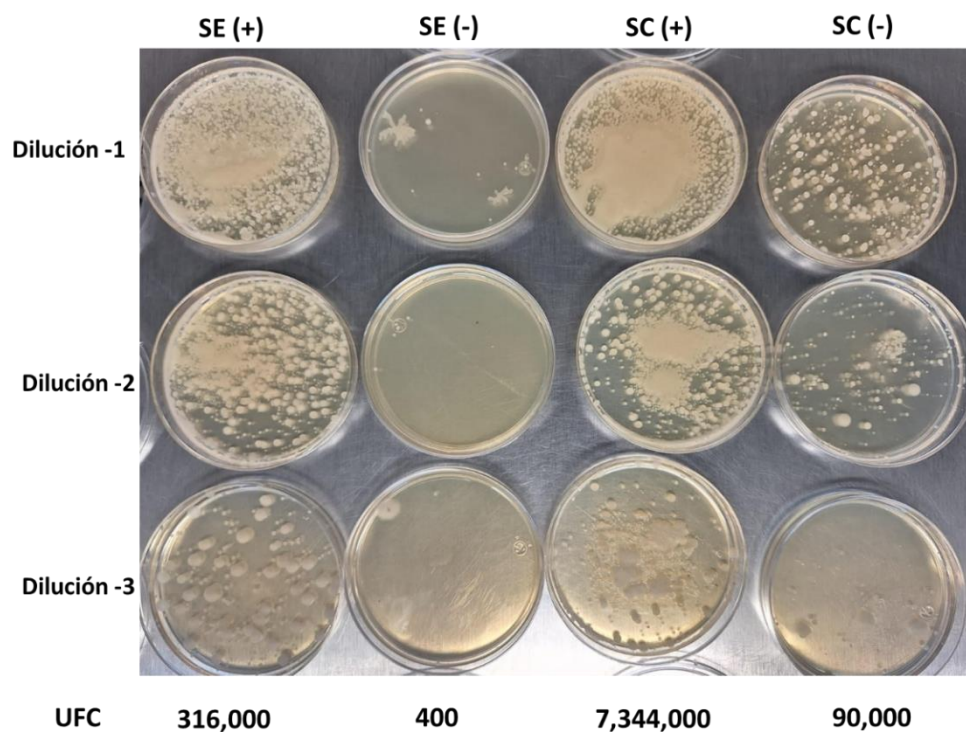


Figura 33. Resultado de crecimiento bacteriano a los 30 días de inoculación en los cuatro suelos experimentales.

El conteo de UFC reflejan la proliferación de microorganismos en los diferentes tratamientos.

En SE(+), el incremento de 46,000 a 316,000 UFC indica que las bacterias inoculadas encontraron condiciones favorables en el suelo estéril para su crecimiento. La ausencia de competencia y la disponibilidad de nutrientes permitieron esta proliferación. Para SE(-), el aumento de 20 a 400 UFC sugiere una colonización mínima por microorganismos ambientales, debido a la falta de inóculo y nutrientes limitados. En SC(+), el notable incremento de 220,000 a 7,344,000 UFC destaca la eficacia de la inoculación en suelos contaminados. La presencia de contaminantes actuaron como fuente de carbono, estimulando

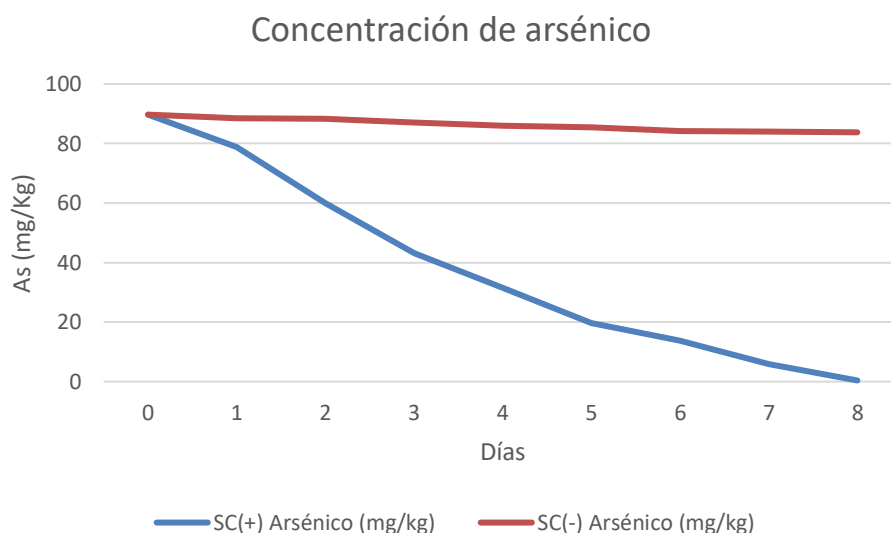
el crecimiento microbiano. Y finalmente en SC(-), el aumento de 42,000 a 90,000 UFC indica que, aunque sin inoculación, las bacterias nativas aprovecharon los contaminantes presentes, pero en menor medida que en SC(+).

Estos hallazgos son consistentes con [121], [140], [267] que han demostrado que la inoculación de microorganismos específicos en suelos contaminados aceleran la degradación de contaminantes y aumentan la actividad microbiana. Por ejemplo, [267] señala que la biorremediación estimula el crecimiento de microbios que usan los contaminantes como fuente de alimento y energía. Además, [268], [269], [270] que la inoculación bacteriana favorecen el crecimiento y la producción de biomasa en suelos contaminados, mejorando la eficiencia de la biorremediación.

Este monitoreo microbiológico permitió evaluar la eficacia de la inoculación y la capacidad de los microorganismos para proliferar en diferentes condiciones de suelo, proporcionando información valiosa para optimizar estrategias de biorremediación.

5.9.9. Resultados de monitoreo para determinar arsénico y mercurio

La figura 34 muestra la concentración de arsénico en el suelo contaminado bajo dos condiciones experimentales: suelo contaminado con inoculación bacteriana (SC+) y suelo contaminado sin inoculación bacteriana (SC-). A lo largo de los 8 días de monitoreo, la concentración de arsénico en SC+ presentó una notable disminución, reduciéndose de aproximadamente 90 mg/kg a casi menor a 3 mg/kg. En contraste, SC- mostró una disminución mínima, indicando que los procesos naturales del suelo no fueron suficientes



para la eliminación significativa del arsénico sin la intervención de microorganismos especializados.

Figura 34. Resultado de monitoreo de remoción de arsénico.

La rápida disminución del arsénico en el tratamiento SC⁺ se explica por varios factores clave, todos cuidadosamente controlados durante el experimento. Uno de los aspectos fundamentales fue la presencia de bacterias con capacidades bioabsorbentes y biotransformadoras, ya que diversos estudios han demostrado que ciertas bacterias halófilas y extremófilas poseen mecanismos eficientes para la bioadsorción y biotransformación del arsénico en formas menos tóxicas o incluso volátiles. En este proceso, las bacterias inoculadas utilizaron rutas metabólicas especializadas, como la reducción de As(V) a As(III), la metilación de As(III) y la precipitación o inmovilización del arsénico mediante la producción de biopolímeros o biofilms[271].

El éxito de la biorremediación estuvo vinculado al mantenimiento de condiciones físico-químicas óptimas. El pH controlado en 7.96 ± 0.5 fue muy importante en la movilidad del arsénico, ya que en este rango se encuentra en formas iónicas más accesibles para la absorción microbiana. Asimismo, la humedad estable en $22.67\% \pm 5\%$ favoreció la actividad metabólica de los microorganismos, asegurando una eficiente biotransformación del contaminante. La temperatura entre 29°C y 37°C se mantuvo en óptimas condiciones para el crecimiento bacteriano, lo que permitió que las poblaciones microbianas pasaran rápidamente de la fase de adaptación a la fase exponencial, acelerando la remoción del arsénico. El mantenimiento de condiciones estériles durante el experimento evitó contaminaciones cruzadas, asegurando que cualquier cambio en la concentración de arsénico se debiera exclusivamente a la actividad microbiana del inoculo experimental. Este control riguroso permitió validar la efectividad del proceso y garantizar la profesionalidad con la que se llevó a cabo la investigación.

Los resultados obtenidos demuestran que la estrategia de biorremediación implementada fue altamente efectiva, logrando en tan solo 8 días una remoción del arsénico prácticamente total en SC⁺. Esto es significativo considerando que los procesos naturales pueden tardar meses o incluso años en reducir la concentración de este metal pesado en ambientes contaminados. En comparación con [144], en el cuál utilizaron la bacteria *Bacillus cereus*,

bacteria nativa del lixiviado de suelo minero, obteniendo la remoción de 40.6 % de remoción de arsénico en 10 días, con un pH de suelo de 7, manteniendo la temperatura controlada de 30°C. [54] realizó un estudio detallado de biorremediación por medio de consorcios bacterianos, estos consorcios bacterianos estaban formados por hasta 16 filos, incluidos Proteobacteria presentes entre 31.9% y 94.9% en suelos de vertederos, 25.1% y 43.3% en zonas urbanas, Actinobacteria se encontraban presentes en un 28.7% en suelos de vertederos, y 34.3% en zonas urbanas, Bacteroidetes 25.6% en vertederos, 7.8% en zonas urbanas, donde las *Pseudomonas* fue el género dominante obteniendo entre un 67%-93% de remoción de As, Hg, Cd, Cu, Pb, Zn y Cr. Otro estudio [56] interesante, aunque no menciona el porcentaje de remoción, fundamenta la diferencia de la diversidad microbiana que existe incluso en suelos de vertederos activos y no activos, en donde ambos se encuentran altamente contaminados y con diferencias en la diversidad microbiana. A diferencia de [64] demuestra como un consorcio de todos los hongos aislados resulta eficaz en la eliminación de arsénico con un 77 % de remoción, Manganese con 71 % de remoción, Cromo con 60 % de remoción, y Cobre con 52 % de remoción. Lo cual con los resultados obtenidos en este estudio para SC+ supera la eficiencia de métodos tradicionales o la combinación con otros métodos como la fitorremediación, los cuales requieren plazos más largos para obtener resultados similares. Además, el uso de bacterias halófilas representa una alternativa sostenible y de bajo impacto ambiental en comparación con tecnologías convencionales que generan residuos secundarios.

El hecho de que SC- no haya mostrado una reducción significativa confirma que el arsénico no se eliminó por procesos físicos o químicos espontáneos, sino que fue resultado directo de la actividad microbiana en SC+. Este hallazgo refuerza la importancia de utilizar consorcios bacterianos específicos en la biorremediación de suelos contaminados.

Dado que el experimento estaba planeado para un monitoreo de 30 días, la reducción acelerada del arsénico sugiere que los tiempos de tratamiento pueden reducirse significativamente en aplicaciones a gran escala, minimizando costos y tiempos de intervención. La combinación de inoculación microbiana con un riguroso control de pH, humedad y temperatura demostró ser una estrategia efectiva para la biorremediación de suelos contaminados con arsénico, lo que resalta su viabilidad para futuras aplicaciones en remediación ambiental.

La figura 35 presenta la concentración de mercurio en suelo contaminado con inoculación bacteriana (SC+) y suelo contaminado sin inoculación bacteriana (SC-). Durante los 8 días de monitoreo, se observó una remoción del 99.33% en SC+, en contraste con solo un 8.22% en SC-, lo que demuestra que la inoculación con microorganismos especializados fue determinante para la eliminación eficiente de este metal pesado.

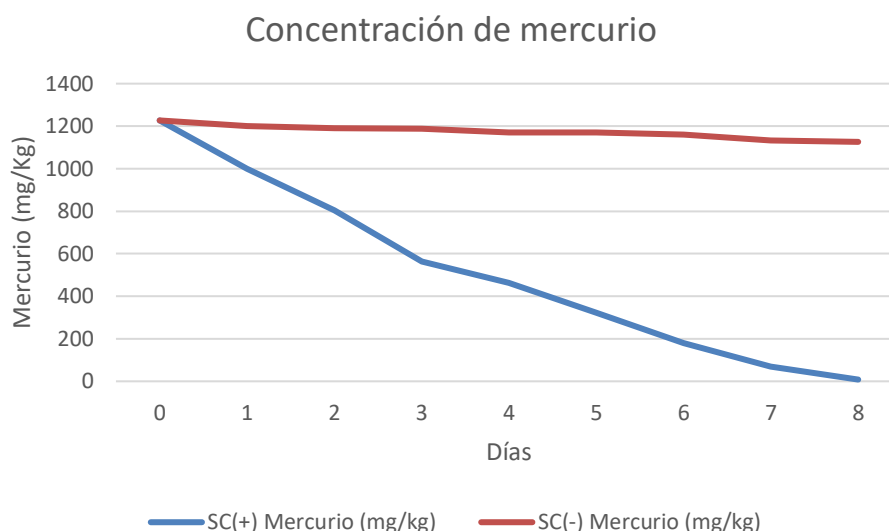


Figura 35. Resultado de monitoreo de remoción de mercurio

La rápida reducción del mercurio en SC+ se debe a la actividad de bacterias con capacidad de biotransformación y bioadsorción. [30], [255] han demostrado que ciertas bacterias, especialmente las halófilas y extremófilas, poseen mecanismos que permiten reducir el mercurio en su forma tóxica Hg(II) a Hg(0), una forma menos tóxica y volátil que puede liberarse a la atmósfera en condiciones controladas. Además, algunas especies bacterianas bioacumulan mercurio intracelularmente o inmovilizarlo mediante la producción de biopolímeros y exopolisacáridos, evitando su dispersión en el suelo y el agua [272], [273].

Para este experimento fue determinante mantener los parámetros como pH, Humedad y temperatura como ya se mencionó en la remoción de arsénico, lo que es fundamental para la expresión de genes relacionados con la resistencia y transformación del mercurio [274].

El hecho de que SC- mostrara una reducción mínima tal cual, en la biorremediación del arsénico, confirma que la eliminación del mercurio no se debió a procesos físico-químicos espontáneos, sino que fue resultado directo de la actividad microbiana en SC+. En ausencia

de microorganismos especializados, el mercurio permanece en formas estables que limitan su movilidad y transformación, lo que explica la baja eficiencia de remoción en esta condición [275] Comparando los resultados de este estudio con otros, por ejemplo [54] removiendo el mercurio entre un 67% A 93 % de este metal pesado.

Estos resultados demuestran que la combinación de inoculación microbiana con un control riguroso de pH, humedad y temperatura es una estrategia altamente efectiva para la biorremediación de suelos contaminados con mercurio. La reducción del 99.33% en tan solo 8 días resalta el potencial de esta metodología para futuras aplicaciones en la descontaminación ambiental, minimizando los riesgos asociados a la toxicidad del mercurio en los ecosistemas y en la salud humana.

5 CONCLUSIONES

Este estudio destaca el impacto de los lixiviados provenientes de vertederos abiertos sobre la microbiota del suelo, evidenciando una alteración significativa en la composición y abundancia de las comunidades bacterianas. La aplicación de consorcios bacterianos, conformados por cepas nativas seleccionadas, demostró ser una estrategia eficaz para la biorremediación de suelos contaminados, logrando una remoción del 99.55% de arsénico y del 99.33% de mercurio. En contraste, los suelos contaminados sin inoculación presentaron remociones significativamente menores, del 6.62% y 8.22% respectivamente. Estos hallazgos subrayan la eficacia de los consorcios bacterianos en la mitigación de contaminantes tóxicos en el suelo.

La universalidad de este enfoque radica en la posibilidad de aislar y seleccionar consorcios bacterianos específicos para diferentes tipos de contaminantes y condiciones ambientales, permitiendo su aplicación en diversas regiones y escenarios de contaminación a nivel internacional. Además, la biorremediación mediante consorcios bacterianos ofrece ventajas significativas en términos sociales, ambientales y económicos, al proporcionar una solución sostenible y rentable para la rehabilitación de suelos contaminados, reduciendo los riesgos para la salud humana y mejorando la calidad de los ecosistemas.

Perspectivas del proyecto

Este proyecto abre nuevas vías para la investigación en biorremediación, sugiriendo la posibilidad de desarrollar estrategias basadas en la manipulación de comunidades microbianas específicas para la descontaminación de suelos afectados por metales pesados. Futuras investigaciones podrían enfocarse en la identificación y optimización de consorcios microbianos con capacidades biorremediadoras mejoradas, así como en la evaluación de la eficacia de estas estrategias en diferentes tipos de suelos y condiciones ambientales. La integración de enfoques metagenómicos podría proporcionar una comprensión más profunda de los mecanismos moleculares involucrados en la degradación de contaminantes, facilitando el diseño de intervenciones más efectivas y sostenibles para la restauración de ecosistemas contaminados.

6 PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

Participaciones en congresos y ponencias

- Director de revisión de artículos científicos del XVI Coloquio de Posgrado de la FI UAQ. Noviembre 2022.
- Revisor de artículos en XVII Coloquio de Posgrado de la FI UAQ. Noviembre 2022.
- Revisor de artículos en V Congreso Nacional de Mecatrónica y Robótica. Mayo 2023.
- Director de revisión de artículos científicos del XVII Coloquio de Posgrado de la FI UAQ. Noviembre 2023.
- Miembro del comité técnico evaluador de trabajos presentados. 22° Congreso Nacional de Mecatrónica. Octubre 2023
- Revisor de artículos en XVII coloquio de posgrado de la FI UAQ. Noviembre 2023
- Participación como juez en la categoría de robot parking del Concurso Internacional de robótica ROBOUAQ 2024. Mayo 2023
- Participación de ponencia en el XIII Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Membranas A. C. “Remoción de Plomo usando Nanopartículas de Carbono Derivadas del Tallo de Girasol”. Octubre 2024.
- Participación en ponencia del artículo: “Producción Simultanea de Electricidad y Biogás a Partir de Vinazas y Estiércol de Vaca”.Novena edición del congreso internacional interdisciplinario de energías renovables, Mantenimiento, industrial, mecatrónica e informática, cierrmmi 2024. Octubre 2024.
- Participación de ponencia en el XVIII Coloquio de Posgrado de la FI UAQ. “Uso de Micorrizas para la Remediación de Suelos Contaminados por la Actividad Minera”. Noviembre 2024.
- Ponente de conferencia en el XVIII Coloquio de Posgrado de la FI UAQ. “Contaminación

Silenciosa: Arsénico y Mercurio en Vertederos Abiertos”. Noviembre 2024.

Asesorías de investigación

- Dirección de tesis de investigación nivel licenciatura “Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Carbono para la Remoción de Metales Pesados en Agua” de la Universidad Autónoma de Querétaro. Matricula 25081
- Dirección de tesis de investigación nivel licenciatura “Impacto de la Biorremediación en la Capacidad de Carga y Resistencia Mecánica del Suelo en Áreas de Vertedero Contaminado: un Enfoque a Ingeniería de Suelos” de la Universidad Autónoma de Querétaro. Matrícula 252402

Publicaciones

- Global Situation of Bioremediation of Leachate-Contaminated Soils by Treatment with Microorganisms: A Systematic Review. Autores: Yesenia Mendoza-Burguete, María de la Luz Pérez-Rea, J. Ledesma-García , Juan Campos-Guillén , M. A. Ramos-López, C. Guzmán y J. A. Rodríguez-Morales *
DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11040857>
- Characterization of Landfill Soil Contaminated with Leachate in Comparison with Uncontaminated Soil. Autores: Yesenia Mendoza-Burguete, Mónica López Velarde Santos, Juvenal Rodríguez Resendíz, Jaime Moroni Mora-Muñoz y J. A. Rodríguez-Morales
<https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/4822>. ISSN: 2218-3620
- Simultaneous Electricity and Biogas Generation of Vinasses and Cattle Manure.
Autores: López-Velarde, S. Mónica; Rodríguez-Morales, José Alberto; Mendoza-Burguete, Yesenia and Hensel, Oliver
DOI: <https://doi.org/10.35429/JEE.2024.8.20.1.10>
- From Organic Waste, a Sustainable Alternative for the Environmental Development.
Autores: Mónica López-Velarde Santos; José Alberto Rodríguez Morales; Yesenia Mendoza-Burguete. ISSN: 2218-3620

7 REFERENCIAS

- [1] D. M.-C. Chen, B. L. Bodirsky, T. Krueger, A. Mishra, and A. Popp, “The world’s growing municipal solid waste: trends and impacts,” *Environmental Research Letters*, vol. 15, no. 7, p. 074021, Jul. 2020,

doi: 10.1088/1748-9326/ab8659.

- [2] G. Cebey, "The Visual Landscape of Waste in Mexico City: Initial Approaches," in *Mediascapes of Ruined Geographies in the Global South*, Cham: Springer International Publishing, 2023, pp. 95–110. doi: 10.1007/978-3-031-31590-9_5.
- [3] SEMARNAT. (2012), *Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales*. Available in https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5286506&fecha=01/02/2013#gsc.tab=0, last access: 2023/10/30.
- [4] S. Nanda and F. Berruti, "Municipal solid waste management and landfilling technologies: a review," *Environ Chem Lett*, vol. 19, no. 2, pp. 1433–1456, Apr. 2021, doi: 10.1007/s10311-020-01100-y.
- [5] Sedesol México. 2005., "Dirección General de Equipamiento e Infraestructura en Zonas, Dirección General de Equipamiento e Infraestructura en Zonas," México, 2005.
- [6] Mendoza-Burguete Yesenia *et al.*, "Global Situation of Bioremediation of Leachate-Contaminated Soils by Treatment with Microorganisms: A Systematic Review," *Microorganisms*, vol. 11, no. 4, p. 857, Mar. 2023, doi: 10.3390/microorganisms11040857.
- [7] A. Hassan, A. Periathamby, A. Ahmed, O. Innocent, and F. S. Hamid, "Effective bioremediation of heavy metal-contaminated landfill soil through bioaugmentation using consortia of fungi," *J Soils Sediments*, vol. 20, no. 1, pp. 66–80, Jan. 2020, doi: 10.1007/s11368-019-02394-4.
- [8] E. Koshlaf, E. Shahsavari, N. Haleyur, A. Mark Osborn, and A. S. Ball, "Effect of biostimulation on the distribution and composition of the microbial community of a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated landfill soil during bioremediation," *Geoderma*, vol. 338, pp. 216–225, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.geoderma.2018.12.001.
- [9] B. H. A. Rehm, "Bacterial polymers: biosynthesis, modifications and applications," *Nat Rev Microbiol*, vol. 8, no. 8, pp. 578–592, Aug. 2010, doi: 10.1038/nrmicro2354.
- [10] Saba, Y. Rehman, M. Ahmed, and A. N. Sabri, "Potential role of bacterial extracellular polymeric substances as biosorbent material for arsenic bioremediation," *Bioremediat J*, vol. 23, no. 2, pp. 72–81, Apr. 2019, doi: 10.1080/10889868.2019.1602107.
- [11] R. Alam, Z. Ahmed, and M. F. Howladar, "Evaluation of heavy metal contamination in water, soil and plant around the open landfill site Mogla Bazar in Sylhet, Bangladesh," *Groundw Sustain Dev*, vol. 10, p. 100311, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.gsd.2019.100311.
- [12] S. Huang, L. Xiao, Y. Zhang, L. Wang, and L. Tang, "Interactive effects of natural and anthropogenic factors on heterogenetic accumulations of heavy metals in surface soils through geodetector analysis," *Science of The Total Environment*, vol. 789, p. 147937, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147937.
- [13] J. P. Vareda, A. J. M. Valente, and L. Durães, "Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: A review," *J Environ Manage*, vol. 246, pp. 101–118, Sep. 2019, doi: 10.1016/j.jenvman.2019.05.126.
- [14] U. , & W. G. T. Förstner, "Metal pollution in the aquatic environment," *Springer Science & Business Media*, 2012.
- [15] O. A. Oyewole, S. S. L.-T. Zobeashia, E. O. Oladoja, R. O. Raji, E. E. Odiniya, and A. M. Musa, "Biosorption of heavy metal polluted soil using bacteria and fungi isolated from soil," *SN Appl Sci*, vol. 1, no. 8, p. 857, Aug. 2019, doi: 10.1007/s42452-019-0879-4.
- [16] A. K. Priya, L. Gnanasekaran, K. Dutta, S. Rajendran, D. Balakrishnan, and M. Soto-Moscoco, "Biosorption of heavy metals by microorganisms: Evaluation of different underlying mechanisms," *Chemosphere*, vol. 307, p. 135957, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.135957.
- [17] C. Chanda, S. Ray Chaudhuri, and I. Mukherjee, "Sulphate-Reducing Bacteria in Wastewater Treatment Processes," 2024, pp. 81–114. doi: 10.1007/978-981-97-3458-0_4.
- [18] R. Hallmann *et al.*, "Physiological characteristics of *thiobacillus ferrooxidans* and *leptospirillum ferrooxidans* and physicochemical factors influence microbial metal leaching," *Geomicrobiol J*, vol. 10, no. 3–4, pp. 193–206, Jul. 1992, doi: 10.1080/01490459209377920.
- [19] A. V. Hirner and A. W. Rettenmeier, "Methylated Metal(loid) Species in Humans," in *Organometallics in Environment and Toxicology*, The Royal Society of Chemistry, 2010, pp. 465–521. doi: 10.1039/9781849730822-00465.

- [20] R. Kordesedehi, A. Shahpiri, M. A. Asadollahi, D. Biria, and P. I. Nikel, "Enhanced chaotrope tolerance and (S)-2-hydroxypropiophenone production by recombinant *Pseudomonas putida* engineered with Pprl from *Deinococcus radiodurans*," *Microb Biotechnol*, vol. 17, no. 3, Mar. 2024, doi: 10.1111/1751-7915.14448.
- [21] P. Vats, U. J. Kaur, and P. Rishi, "Heavy metal-induced selection and proliferation of antibiotic resistance: A review," *J Appl Microbiol*, vol. 132, no. 6, pp. 4058–4076, Jun. 2022, doi: 10.1111/jam.15492.
- [22] M. T. Madigan, "Bacterial Habitats in Extreme Environments," in *Journey to Diverse Microbial Worlds*, Dordrecht: Springer Netherlands, 2000, pp. 61–72. doi: 10.1007/978-94-011-4269-4_5.
- [23] J. Wang *et al.*, "Research progress regarding the role of halophilic and halotolerant microorganisms in the eco-environmental sustainability and conservation," *J Clean Prod*, vol. 418, p. 138054, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.jclepro.2023.138054.
- [24] N. Tavoosi, A. Akhavan Sepahi, M. A. Amoozegar, and V. Kiarostami, "Toxic heavy metal/oxyanion tolerance in haloarchaea from some saline and hypersaline ecosystems," *J Basic Microbiol*, vol. 63, no. 5, pp. 558–569, May 2023, doi: 10.1002/jobm.202200465.
- [25] P. Zhou *et al.*, "Investigation of mercury tolerance in *Chromohalobacter israelensis* DSM 6768T and *Halomonas zincidurans* B6T by comparative genomics with *Halomonas xinjiangensis* TRM 0175T," *Mar Genomics*, vol. 19, pp. 15–16, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.margen.2014.11.008.
- [26] J. J. Nieto, A. Ventosa, and F. Ruiz-Berraquero, "Susceptibility of Halobacteria to Heavy Metals," *Appl Environ Microbiol*, vol. 53, no. 5, pp. 1199–1202, May 1987, doi: 10.1128/aem.53.5.1199-1202.1987.
- [27] V. Kumar and S. K. Tiwari, "Halocin Diversity Among Halophilic Archaea and Their Applications," in *Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications*, Singapore: Springer Singapore, 2019, pp. 497–532. doi: 10.1007/978-981-13-8315-1_16.
- [28] M. U. Mustapha and N. Halimoon, "Screening and Isolation of Heavy Metal Tolerant Bacteria in Industrial Effluent," *Procedia Environ Sci*, vol. 30, pp. 33–37, 2015, doi: 10.1016/j.proenv.2015.10.006.
- [29] D. Kalaimurugan *et al.*, "Isolation and characterization of heavy-metal-resistant bacteria and their applications in environmental bioremediation," *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 17, no. 3, pp. 1455–1462, Mar. 2020, doi: 10.1007/s13762-019-02563-5.
- [30] D. M. Voica, L. Bartha, H. L. Banciu, and A. Oren, "Heavy metal resistance in halophilic *Bacteria* and *Archaea*," *FEMS Microbiol Lett*, vol. 363, no. 14, p. fnw146, Jul. 2016, doi: 10.1093/femsle/fnw146.
- [31] F. Camargo, B. Okeke, F. Bento, and W. Frankenberger, "Hexavalent Chromium Reduction by Immobilized Cells and the Cell-Free Extract of *Bacillus* sp. ES 29," *Bioremediat J*, vol. 8, no. 1–2, pp. 23–30, Jan. 2004, doi: 10.1080/10889860490453140.
- [32] C.-C. Lin and Y.-T. Lai, "Adsorption and recovery of lead(II) from aqueous solutions by immobilized *Pseudomonas Aeruginosa* PU21 beads," *J Hazard Mater*, vol. 137, no. 1, pp. 99–105, Sep. 2006, doi: 10.1016/j.jhazmat.2006.02.071.
- [33] G. USLU and M. TANYOL, "Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead (II) and copper (II) ions onto *Pseudomonas putida*: Effect of temperature," *J Hazard Mater*, vol. 135, no. 1–3, pp. 87–93, Jul. 2006, doi: 10.1016/j.jhazmat.2005.11.029.
- [34] F. Beolchini, F. Pagnanelli, L. Toro, and F. Vegliò, "Ionic strength effect on copper biosorption by *Sphaerotilus natans*: equilibrium study and dynamic modelling in membrane reactor," *Water Res*, vol. 40, no. 1, pp. 144–152, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.watres.2005.10.031.
- [35] W.-B. Lu, J.-J. Shi, C.-H. Wang, and J.-S. Chang, "Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance," *J Hazard Mater*, vol. 134, no. 1–3, pp. 80–86, Jun. 2006, doi: 10.1016/j.jhazmat.2005.10.036.
- [36] D. Fang and L.-X. Zhou, "Enhanced Cr bioleaching efficiency from tannery sludge with coinoculation of *Acidithiobacillus thiooxidans* TS6 and *Brettanomyces* B65 in an air-lift reactor," *Chemosphere*, vol. 69, no. 2, pp. 303–310, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.03.059.
- [37] A. Zahoor and A. Rehman, "Isolation of Cr(VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater," *Journal of Environmental Sciences*, vol. 21, no. 6, pp. 814–820, Jan. 2009, doi: 10.1016/S1001-0742(08)62346-3.

- [38] J. Yang, M. He, and G. Wang, "Removal of toxic chromate using free and immobilized Cr(VI)-reducing bacterial cells of *Intrasporangium* sp. Q5-1," *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 25, no. 9, pp. 1579–1587, Sep. 2009, doi: 10.1007/s11274-009-0047-x.
- [39] X. Hao *et al.*, "Recent advances in exploring the heavy metal(loid) resistant microbiome," *Comput Struct Biotechnol J*, vol. 19, pp. 94–109, 2021, doi: 10.1016/j.csbj.2020.12.006.
- [40] F. Z. Rizvi and M. Faisal, "Role of Heavy Metal Resistant Bacteria for Bioremediation of Polluted Environment," *THE JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND MOLECULAR GENETICS*, vol. 1, no. 2, pp. 9–18, Aug. 2020, doi: 10.52700/jmmg.v1i2.15.
- [41] H. Wang *et al.*, "Genome Sequence of Deep-Sea Manganese-Oxidizing Bacterium *Marinobacter manganoxydans* MnI7-9," *J Bacteriol*, vol. 194, no. 4, pp. 899–900, Feb. 2012, doi: 10.1128/JB.06551-11.
- [42] B. B. Salgaonkar, D. Das, and J. M. Bragança, "Resistance of extremely halophilic archaea to zinc and zinc oxide nanoparticles," *Appl Nanosci*, vol. 6, no. 2, pp. 251–258, Feb. 2016, doi: 10.1007/s13204-015-0424-8.
- [43] H. Baati, M. Siala, C. Azri, E. Ammar, C. Dunlap, and M. Trigui, "Resistance of a *Halobacterium salinarum* isolate from a solar saltern to cadmium, lead, nickel, zinc, and copper," *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 113, no. 11, pp. 1699–1711, Nov. 2020, doi: 10.1007/s10482-020-01475-6.
- [44] B.-B. Wang, C.-X. Bao, Y.-P. Sun, J. Hou, and H.-L. Cui, "*Halobacterium wangiae* sp. nov. and *Halobacterium zhouii* sp. nov., two extremely halophilic archaea isolated from sediment of a salt lake and saline soil of an inland saltern," *Int J Syst Evol Microbiol*, vol. 73, no. 5, May 2023, doi: 10.1099/ijsem.0.005922.
- [45] F. Sun, Z. Xu, and L. Fan, "Response of heavy metal and antibiotic resistance genes and related microorganisms to different heavy metals in activated sludge," *J Environ Manage*, vol. 300, p. 113754, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.jenvman.2021.113754.
- [46] H. Ul Haq *et al.*, "Genetic and genomic characterization of multidrug resistant *Bacillus subtilis* M3 isolated from an activated sludge reactor treating wastewater," *Biologia (Bratisl)*, vol. 77, no. 4, pp. 1151–1160, Apr. 2022, doi: 10.1007/s11756-021-01006-2.
- [47] Google LLC, "Google Earth, <https://www.google.com/earth/>."
- [48] NOM-147-SEMARNAT/SSAI-2004. Available in:
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4964569&fecha=02/03/2007#gsc.tab=0, last access: 2023/10/30.
- [49] NOM-021-RECNAT-2000, NOM-021-RECNAT-2000, NORMA Oficial Mexicana, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. México.
- [50] B. Jayanthi, C. U. Emenike, S. H. Auta, P. Agamuthu, and S. H. Fauziah, "Characterization of induced metal responses of bacteria isolates from active non-sanitary landfill in Malaysia," *Int Biodeterior Biodegradation*, vol. 119, pp. 467–475, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.ibiod.2016.10.053.
- [51] R. González-Núñez, A. Rigol, and M. Vidal, "Assessing the efficacy over time of the addition of industrial by-products to remediate contaminated soils at a pilot-plant scale," *Environ Monit Assess*, vol. 189, no. 4, p. 155, Apr. 2017, doi: 10.1007/s10661-017-5864-z.
- [52] C. U. Emenike, W. Liew, M. G. Fahmi, K. N. Jalil, A. Pariathamby, and F. S. Hamid, "Optimal Removal of Heavy Metals From Leachate Contaminated Soil Using Bioaugmentation Process," *Clean (Weinh)*, vol. 45, no. 2, Feb. 2017, doi: 10.1002/clen.201500802.
- [53] B. Jayanthi, C. U. Emenike, P. Agamuthu, and S. H. Fauziah, "Potential of *Cordyline* sp Plant for Remediation of Metal-Leachate Contaminated Soil," *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, vol. 8, no. 3, pp. 199–202, Jun. 2017, doi: 10.18178/ijcea.2017.8.3.656.
- [54] A. Rajasekar, R. Sekar, E. Medina-Roldán, J. Bridge, C. K. S. Moy, and S. Wilkinson, "Next-generation sequencing showing potential leachate influence on bacterial communities around a landfill in China," *Can J Microbiol*, vol. 64, no. 8, pp. 537–549, Aug. 2018, doi: 10.1139/cjm-2017-0543.
- [55] J. S. Adriano, G. G. Oyong, E. C. Cabrera, and J. I. B. Janairo, "Screening of Silver-Tolerant Bacteria from a Major Philippine Landfill as Potential Bioremediation Agents," *Ecological Chemistry and Engineering S*, vol. 25, no. 3, pp. 469–485, Sep. 2018, doi: 10.1515/eces-2018-0032.

- [56] M. Y. Zainun and K. Simarani, "Metagenomics profiling for assessing microbial diversity in both active and closed landfills," *Science of the Total Environment*, vol. 616–617, pp. 269–278, Mar. 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.266.
- [57] S. jia Liu *et al.*, "Succession and diversity of microbial communities in landfills with depths and ages and its association with dissolved organic matter and heavy metals," *Science of the Total Environment*, vol. 651, pp. 909–916, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.267.
- [58] A. Hassan, A. Pariatamby, A. Ahmed, H. S. Auta, and F. S. Hamid, "Enhanced Bioremediation of Heavy Metal Contaminated Landfill Soil Using Filamentous Fungi Consortia: a Demonstration of Bioaugmentation Potential," *Water Air Soil Pollut*, vol. 230, no. 9, Sep. 2019, doi: 10.1007/s11270-019-4227-5.
- [59] O. Oziegbe, A. O. Oluduro, E. J. Oziegbe, E. F. Ahuekwe, and S. J. Olorunsola, "Assessment of heavy metal bioremediation potential of bacterial isolates from landfill soils," *Saudi J Biol Sci*, vol. 28, no. 7, pp. 3948–3956, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.sjbs.2021.03.072.
- [60] M. E. Karim *et al.*, "Biotransformation of chromium (VI) by *Bacillus* sp. isolated from chromate contaminated landfill site," *Chemistry and Ecology*, vol. 36, no. 10, pp. 922–937, Nov. 2020, doi: 10.1080/02757540.2020.1799992.
- [61] A. Hassan, A. Pariatamby, I. C. Ossai, and F. S. Hamid, "Bioaugmentation assisted mycoremediation of heavy metal and/metalloid landfill contaminated soil using consortia of filamentous fungi," *Biochem Eng J*, vol. 157, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.bej.2020.107550.
- [62] D. Li *et al.*, "Discovery of a novel native bacterium of *Providencia* sp. with high biosorption and oxidation ability of manganese for bioleaching of heavy metal contaminated soils," *Chemosphere*, vol. 241, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125039.
- [63] M. Cimermanova, P. Pristas, and M. Piknova, "Biodiversity of actinomycetes from heavy metal contaminated technosols," *Microorganisms*, vol. 9, no. 8, Aug. 2021, doi: 10.3390/microorganisms9081635.
- [64] A. Hassan *et al.*, "Bioaugmentation-assisted bioremediation and kinetics modelling of heavy metal-polluted landfill soil," *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 19, no. 7, pp. 6729–6754, Jul. 2022, doi: 10.1007/s13762-021-03626-2.
- [65] L. A. A. Garcete, J. E. R. Martinez, D. B. V. Barrera, R. C. Bonugli-Santos, and M. R. Z. Passarini, "Biotechnological potential of microorganisms from landfill leachate: isolation, antibiotic resistance and leachate discoloration," *An Acad Bras Cienc*, vol. 94, no. 3, 2022, doi: 10.1590/0001-376520220210642.
- [66] J. J. Espada, R. Rodríguez, V. Gari, P. Salcedo-Abraira, and L. F. Bautista, "Coupling phytoremediation of Pb-contaminated soil and biomass energy production: A comparative Life Cycle Assessment," *Science of The Total Environment*, vol. 840, p. 156675, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156675.
- [67] J. Rojas-Vargas *et al.*, "Oil-degrading bacterial consortium from Gulf of Mexico designed by a factorial method, reveals stable population dynamics," *Front Mar Sci*, vol. 9, Sep. 2022, doi: 10.3389/fmars.2022.962071.
- [68] A. Khan, A. Gupta, P. Singh, A. K. Mishra, R. K. Ranjan, and A. Srivastava, "Siderophore-assisted cadmium hyperaccumulation in *Bacillus subtilis*," *International Microbiology*, vol. 23, no. 2, pp. 277–286, May 2020, doi: 10.1007/s10123-019-00101-4.
- [69] K. Boubekri *et al.*, "The Screening of Potassium- and Phosphate-Solubilizing Actinobacteria and the Assessment of Their Ability to Promote Wheat Growth Parameters," *Microorganisms*, vol. 9, no. 3, p. 470, Feb. 2021, doi: 10.3390/microorganisms9030470.
- [70] M. Pacwa-Płociniczak, J. Czapla, T. Płociniczak, and Z. Piotrowska-Seget, "The effect of bioaugmentation of petroleum-contaminated soil with *Rhodococcus erythropolis* strains on removal of petroleum from soil," *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 169, pp. 615–622, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.11.081.
- [71] A. Darma *et al.*, "Significance of *Shewanella* Species for the Phytoavailability and Toxicity of Arsenic—A Review," *Biology (Basel)*, vol. 11, no. 3, p. 472, Mar. 2022, doi: 10.3390/biology11030472.
- [72] J. Rojas-Vargas *et al.*, "Oil-degrading bacterial consortium from Gulf of Mexico designed by a factorial

- method, reveals stable population dynamics,” *Front Mar Sci*, vol. 9, Sep. 2022, doi: 10.3389/fmars.2022.962071.
- [73] S. BOTEVA and Anelia. KENAROVA, “Impact of Methane Concentration and Temperature on the Activity of a Methanotrophic Strain Isolated from a Municipal Landfill,” *Comptes rendus de l’Académie bulgare des Sciences*, vol. 70, no. 9, pp. 1271–1279, 2017.
 - [74] H. M. Zhao *et al.*, “Enhanced dissipation of DEHP in soil and simultaneously reduced bioaccumulation of DEHP in vegetable using bioaugmentation with exogenous bacteria,” *Biol Fertil Soils*, vol. 53, no. 6, pp. 663–675, Aug. 2017, doi: 10.1007/s00374-017-1208-y.
 - [75] A. K. Awasthi, A. K. Pandey, and J. Khan, “A preliminary report of indigenous fungal isolates from contaminated municipal solid waste site in India,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 24, no. 9, pp. 8880–8888, Mar. 2017, doi: 10.1007/s11356-017-8472-0.
 - [76] A. Dadrasnia, M. S. Azirun, and S. B. Ismail, “Optimal reduction of chemical oxygen demand and NH₃-N from landfill leachate using a strongly resistant novel *Bacillus salmalaya* strain,” *BMC Biotechnol*, vol. 17, no. 1, Nov. 2017, doi: 10.1186/s12896-017-0395-9.
 - [77] C. U. Emenike, P. Agamuthu, and S. H. Fauziah, “Sustainable remediation of heavy metal polluted soil: A biotechnical interaction with selected bacteria species,” *J Geochem Explor*, vol. 182, pp. 275–278, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.gexplo.2016.10.002.
 - [78] S. H. Fauziah, P. Agamuthu, R. Hashim, A. K. Izyani, and C. U. Emenike, “Assessing the bioaugmentation potentials of individual isolates from landfill on metal-polluted soil,” *Environ Earth Sci*, vol. 76, no. 11, Jun. 2017, doi: 10.1007/s12665-017-6739-x.
 - [79] B. Jayanthi, C. U. Emenike, S. H. Auta, P. Agamuthu, and S. H. Fauziah, “Characterization of induced metal responses of bacteria isolates from active non-sanitary landfill in Malaysia,” *Int Biodeterior Biodegradation*, vol. 119, pp. 467–475, Apr. 2017, doi: 10.1016/j.ibiod.2016.10.053.
 - [80] C. U. Emenike, W. Liew, M. G. Fahmi, K. N. Jalil, A. Pariathamby, and F. S. Hamid, “Optimal Removal of Heavy Metals From Leachate Contaminated Soil Using Bioaugmentation Process,” *Clean (Weinh)*, vol. 45, no. 2, Feb. 2017, doi: 10.1002/clen.201500802.
 - [81] B. Jayanthi, C. U. Emenike, P. Agamuthu, and S. H. Fauziah, “Potential of *Cordyline* sp Plant for Remediation of Metal-Leachate Contaminated Soil,” *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, vol. 8, no. 3, pp. 199–202, Jun. 2017, doi: 10.18178/ijcea.2017.8.3.656.
 - [82] R. González-Núñez, A. Rigol, and M. Vidal, “Assessing the efficacy over time of the addition of industrial by-products to remediate contaminated soils at a pilot-plant scale,” *Environ Monit Assess*, vol. 189, no. 4, p. 155, Apr. 2017, doi: 10.1007/s10661-017-5864-z.
 - [83] J. Rajasekar, E. Medina-Roldan, C. K. S. Moy, and J. , Rajasekar, “Biominalisation performance of bacteria isolated from a landfill in China.” [Online]. Available: <http://shura.shu.ac.uk/22438/>
 - [84] Q. Liu *et al.*, “Bioremediation of petroleum-contaminated soil using aged refuse from landfills,” *Waste Management*, vol. 77, pp. 576–585, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.wasman.2018.05.010.
 - [85] V. Sharma and D. Pant, “Biocompatible metal decontamination from soil using *Ageratum conyzoides*,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 25, no. 22, pp. 22294–22307, Aug. 2018, doi: 10.1007/s11356-018-2343-1.
 - [86] S. Dey and P. Tribedi, “Microbial functional diversity plays an important role in the degradation of polyhydroxybutyrate (PHB) in soil,” *3 Biotech*, vol. 8, no. 3, Mar. 2018, doi: 10.1007/s13205-018-1201-7.
 - [87] N. Manoj Kumar and M. Chaithanya Sudha, “Characterization of Leachate and Groundwater in and Around Saduperi Municipal Solid Waste Open Dump Site, Vellore District, Tamil Nadu, India,” in *Energy, Environment, and Sustainability*, Springer Nature, 2018, pp. 279–299. doi: 10.1007/978-981-10-7413-4_15.
 - [88] M. Ohlbaum, S. L. Wadgaonkar, J. J. A. van Bruggen, Y. V. Nanchaiah, and P. N. L. Lens, “Phytoremediation of seleniferous soil leachate using the aquatic plants *Lemna minor* and *Egeria densa*,” *Ecol Eng*, vol. 120, pp. 321–328, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.ecoleng.2018.06.013.
 - [89] A. Paskuliakova, T. McGowan, S. Tonry, and N. Touzet, “Phycoremediation of landfill leachate with the chlorophyte *Chlamydomonas* sp. SW15aRL and evaluation of toxicity pre and post treatment,”

- Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 147, pp. 622–630, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.09.010.
- [90] W. Guidi Nissim *et al.*, “Phytoremediation of sewage sludge contaminated by trace elements and organic compounds,” *Environ Res*, vol. 164, pp. 356–366, Jul. 2018, doi: 10.1016/J.ENVRES.2018.03.009.
 - [91] F. Spina *et al.*, “OPTIMIZING BIOREMEDIATION OF HYDROCARBONPOLLUTED SOIL BY LIFE CYCLE ASSESSMENT (LCA) APPROACH,” 2018. [Online]. Available: <http://www.eemj.icpm.tuiasi.ro/>; <http://www.eemj.eu>
 - [92] A. Jamil, M. S. Akhtar, S. Munir, I. Ahmed, A. Khalid, and R. Hayat, “Raoultella and Enterococcus species identified as high chromium and arsenic tolerant bacteria,” *Biointerface Res Appl Chem*, vol. 8, no. 3, 2018.
 - [93] A. Roxana Gabriela Popa, L. eng Emil Catalin Schiopu, L. Irina-Ramona Pecingina, and A. eng Cazalbasu Violeta Ramona, “Section Ecology and Environmental Protection APPLICATION OF BIOREMEDIATION IN THE DECONTAMINATION OF POLLUTED SOIL WITH PETROLEUM HYDROCARBONS”, doi: 10.5593/sgem2018/5.2.
 - [94] I. V. K. Nayanthika, D. T. Jayawardana, N. J. G. J. Bandara, P. M. Manage, and R. M. T. D. Madushanka, “Effective use of iron-aluminum rich laterite based soil mixture for treatment of landfill leachate,” *Waste Management*, vol. 74, pp. 347–361, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.wasman.2018.01.013.
 - [95] D. K. R. Bardají, J. P. R. Furlan, and E. G. Stehling, “Isolation of a polyethylene degrading Paenibacillus sp. from a landfill in Brazil,” *Arch Microbiol*, vol. 201, no. 5, pp. 699–704, Jul. 2019, doi: 10.1007/s00203-019-01637-9.
 - [96] Y. Tao *et al.*, “Metabolism of diethyl phthalate (DEP) and identification of degradation intermediates by Pseudomonas sp. DNE-S1,” *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 173, pp. 411–418, May 2019, doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.02.055.
 - [97] C. Lu *et al.*, “A PAH-degrading bacterial community enriched with contaminated agricultural soil and its utility for microbial bioremediation,” *Environmental Pollution*, vol. 251, pp. 773–782, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.envpol.2019.05.044.
 - [98] L. Silvani *et al.*, “Can biochar and designer biochar be used to remediate per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) and lead and antimony contaminated soils?,” *Science of the Total Environment*, vol. 694, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.133693.
 - [99] R. Bian, W. Shi, Y. Duan, and X. Chai, “Effect of soil types and ammonia concentrations on the contribution of ammonia-oxidizing bacteria to CH₄ oxidation,” *Waste Management and Research*, vol. 37, no. 7, pp. 698–705, Jul. 2019, doi: 10.1177/0734242X19843988.
 - [100] W. Hu *et al.*, “Enhanced degradation of 1-naphthol in landfill leachate using Arthrobacter sp.,” *Environmental Technology (United Kingdom)*, vol. 40, no. 7, pp. 835–842, Mar. 2019, doi: 10.1080/09593330.2017.1408695.
 - [101] D. Daniel, P. Jegathambal, and B. Bevers, “In Situ Bioremediation of Textile Dye Effluent-Contaminated Soils Using Mixed Microbial Culture,” *International Journal of Civil Engineering*, vol. 17, no. 10, pp. 1527–1536, Oct. 2019, doi: 10.1007/s40999-019-00414-5.
 - [102] Swati, P. Ghosh, and I. S. Thakur, “Biodegradation of pyrene by Pseudomonas sp. ISTPY2 isolated from landfill soil: Process optimisation using Box-Behnken design model,” *Bioresour Technol Rep*, vol. 8, p. 100329, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.biteb.2019.100329.
 - [103] M. Vargas-Suárez, V. Fernández-Cruz, and H. Loza-Tavera, “Biodegradation of polyacrylic and polyester polyurethane coatings by enriched microbial communities,” *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 103, no. 7, pp. 3225–3236, Apr. 2019, doi: 10.1007/s00253-019-09660-y.
 - [104] O. Oziegbe, O. T. Aladesanmi, and O. O. Awotoye, “Effect of biochar on the nutrient contents and metal recovery efficiency in sorghum planted on landfill soils,” *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 16, no. 5, pp. 2259–2270, May 2019, doi: 10.1007/s13762-018-1843-3.
 - [105] J. Sedlakova-Kadukova, A. Kopcakova, L. Gresakova, A. Godany, and P. Pristas, “Bioaccumulation and biosorption of zinc by a novel Streptomyces K11 strain isolated from highly alkaline aluminium brown mud disposal site,” *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 167, pp. 204–211, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.09.123.
 - [106] N. Sepehrnia *et al.*, “Transport, retention, and release of Escherichia coli and Rhodococcus erythropolis

- through dry natural soils as affected by water repellency,” *Science of the Total Environment*, vol. 694, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.133666.
- [107] Q. Xu, S. Renault, D. Goltz, and Q. Yuan, “Phytoremediation of waste dumping site soil and landfill leachate by using cattail (*Typha latifolia*),” *Environmental Technology (United Kingdom)*, vol. 41, no. 9, pp. 1101–1106, Apr. 2020, doi: 10.1080/09593330.2018.1521474.
 - [108] S. J. Liu, M. X. Zheng, X. J. Sun, B. D. Xi, X. S. He, and X. Xiao, “Evolution properties and dechlorination capacities of particulate organic matter from a landfill,” *J Hazard Mater*, vol. 400, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123313.
 - [109] L. Qin, X. Huang, Q. Xue, L. Liu, and Y. Wan, “In-situ biodegradation of harmful pollutants in landfill by sludge modified biochar used as biocover,” *Environmental Pollution*, vol. 258, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.envpol.2019.113710.
 - [110] J. Ru, Y. Huo, and Y. Yang, “Microbial Degradation and Valorization of Plastic Wastes,” Apr. 21, 2020, *Frontiers Media S.A.* doi: 10.3389/fmicb.2020.00442.
 - [111] L. Qin, Z. Xu, L. Liu, H. Lu, Y. Wan, and Q. Xue, “In-situ biodegradation of volatile organic compounds in landfill by sewage sludge modified waste-char,” *Waste Management*, vol. 105, pp. 317–327, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.wasman.2020.02.022.
 - [112] F. Elbehiry, H. Elbasiouny, R. Ali, and E. C. Brevik, “Enhanced Immobilization and Phytoremediation of Heavy Metals in Landfill Contaminated Soils,” *Water Air Soil Pollut*, vol. 231, no. 5, May 2020, doi: 10.1007/s11270-020-04493-2.
 - [113] M. Ajona and P. Vasanthi, “Bioremediation of petroleum contaminated soils – A review,” in *Materials Today: Proceedings*, Elsevier Ltd, 2020, pp. 7117–7122. doi: 10.1016/j.matpr.2021.01.949.
 - [114] Swati, M. Kumari, P. Ghosh, and I. S. Thakur, “Evaluation of a biosurfactant producing bacterial strain *Pseudomonas* sp. ISTPY2 for efficient pyrene degradation and landfill soil bioremediation through soil microcosm and proteomic studies,” *Bioresour Technol Rep*, vol. 12, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.biteb.2020.100607.
 - [115] B. Arab, F. Hassanpour, M. Arshadi, S. Yaghmaei, and J. Hamed, “Optimized bioleaching of copper by indigenous cyanogenic bacteria isolated from the landfill of e-waste,” *J Environ Manage*, vol. 261, May 2020, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.110124.
 - [116] O. Aromolaran, O. E. Fagade, H. M. Olarenwaju, and A. A. Ogunjobi, “Degradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by *Bacillus aquimaris* isolated from Ajakanga municipal solid waste leachate,” *Malays J Microbiol*, vol. 16, no. 2, pp. 117–123, 2020, doi: 10.21161/mjm.190433.
 - [117] N. Salehi, A. Azhdarpoor, and M. Shirdarreh, “The effect of different levels of leachate on phytoremediation of pyrene-contaminated soil and simultaneous extraction of lead and cadmium,” *Chemosphere*, vol. 246, May 2020, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.125845.
 - [118] A. Herrera-Quiterio *et al.*, “Antagonic and plant growth-promoting effects of bacteria isolated from mine tailings at El Fraile, Mexico,” *Rev Argent Microbiol*, vol. 52, no. 3, pp. 231–239, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.ram.2019.08.003.
 - [119] Y. Zegzouti *et al.*, “Screening and selection of autochthonous fungi from leachate contaminated-soil for bioremediation of different types of leachate,” *Environmental Engineering Research*, vol. 25, no. 5, pp. 722–734, 2020, doi: 10.4491/eer.2019.317.
 - [120] F. C. Mihai, R. Plana, M. J. Taherzadeh, M. K. Aswathi, and C. Ezeah, “Bioremediation of organic contaminants based on biowaste composting practices,” in *Handbook of Bioremediation: Physiological, Molecular and Biotechnological Interventions*, Elsevier, 2020, pp. 701–714. doi: 10.1016/B978-0-12-819382-2.00045-4.
 - [121] K. Janczak, G. B. Dąbrowska, A. Raszowska-Kaczor, D. Kaczor, K. Hryniewicz, and A. Richert, “Biodegradation of the plastics PLA and PET in cultivated soil with the participation of microorganisms and plants,” *Int Biodeterior Biodegradation*, vol. 155, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.ibiod.2020.105087.
 - [122] T. Steliga, K. Wojtowicz, P. Kapusta, and J. Brzeszcz, “Assessment of biodegradation efficiency of polychlorinated biphenyls (PCBs) and petroleum hydrocarbons (TPH) in soil using three individual bacterial strains and their mixed culture,” *Molecules*, vol. 25, no. 3, Feb. 2020, doi: 10.3390/molecules25030709.

- [123] X. Li, J. Li, C. Qu, T. Yu, and M. Du, "Bioremediation of clay with high oil content and biological response after restoration," *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-88033-w.
- [124] P. Wang, J. Gao, Y. Zhao, M. Zhang, and S. Zhou, "Biodegradability of di-(2-ethylhexyl) phthalate by a newly isolated bacterium *Achromobacter* sp. RX," *Science of the Total Environment*, vol. 755, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142476.
- [125] R. Kumar *et al.*, "Landfill microbiome harbour plastic degrading genes: A metagenomic study of solid waste dumping site of Gujarat, India," *Science of the Total Environment*, vol. 779, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.146184.
- [126] S. Nivedita, D. N. Arnepalli, and C. Krishnan, "Kinetics and Stoichiometry of an Efficient Methanotroph *Methylosarcina* sp. LC-4 Isolated from a Municipal Solid Waste Dumpsite," *Journal of Environmental Engineering*, vol. 147, no. 5, May 2021, doi: 10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001867.
- [127] S. Paliya, A. Mandpe, M. S. Kumar, and S. Kumar, "Aerobic degradation of decabrominated diphenyl ether through a novel bacterium isolated from municipal waste dumping site: Identification, degradation and metabolic pathway," *Bioresour Technol*, vol. 333, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125208.
- [128] M. F. Imron, S. B. Kurniawan, and S. R. S. Abdullah, "Resistance of bacteria isolated from leachate to heavy metals and the removal of Hg by *Pseudomonas aeruginosa* strain FZ-2 at different salinity levels in a batch biosorption system," *Sustainable Environment Research*, vol. 31, no. 1, Dec. 2021, doi: 10.1186/s42834-021-00088-6.
- [129] Z. Soleimani, S. Gharavi, M. Soudi, and Z. Moosavi-Nejad, "A survey of intact low-density polyethylene film biodegradation by terrestrial Actinobacterial species," *International Microbiology*, vol. 24, no. 1, pp. 65–73, Jan. 2021, doi: 10.1007/s10123-020-00142-0.
- [130] F. Spina *et al.*, "Low density polyethylene degradation by filamentous fungi," *Environmental Pollution*, vol. 274, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.envpol.2021.116548.
- [131] R. J. Cabello-Torres, J. R. Romero-Longwell, L. Valdiviezo-Gonzales, R. Munive-Cerrón, and C. A. Castañeda-Olivera, "Biochar derived from pig manure with ability to reduce the availability of Pb in contaminated agricultural soils," *Scientia Agropecuaria*, vol. 12, no. 4, pp. 461–470, Oct. 2021, doi: 10.17268/sci.agropecu.2021.050.
- [132] E. Urionabarrenetxea *et al.*, "Application of in situ bioremediation strategies in soils amended with sewage sludges," *Science of the Total Environment*, vol. 766, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144099.
- [133] M. L. Huang, P. L. Yen, and V. H. C. Liao, "A combined approach to remediate cadmium contaminated sediment using the acidophilic sulfur-oxidizing bacterial SV5 and untreated coffee ground," *Chemosphere*, vol. 273, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129662.
- [134] H. T. Tran *et al.*, "Aerobic composting remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. Current and future perspectives," *Science of the Total Environment*, vol. 753, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142250.
- [135] M. Vera-Bernal and R. M. Martínez-Espinosa, "Insights on Cadmium Removal by Bioremediation: The Case of Haloarchaea," *Microbiol Res (Pavia)*, vol. 12, no. 2, pp. 354–375, Apr. 2021, doi: 10.3390/microbiolres12020024.
- [136] Y. Gou, J. Ma, S. Yang, and Y. Song, "Insights into the effects of Fenton oxidation on PAH removal and indigenous bacteria in aged subsurface soil," *Environmental Pollution*, vol. 298, p. 118872, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.envpol.2022.118872.
- [137] S. Shariati *et al.*, "Degradation of dibutyl phthalate by *Paenarthrobacter* sp. Shss isolated from Saravan landfill, Hyrcanian Forests, Iran," *Biodegradation*, vol. 33, no. 1, pp. 59–70, Feb. 2022, doi: 10.1007/s10532-021-09966-7.
- [138] S. Sahu *et al.*, "Bacterial strains found in the soils of a municipal solid waste dumping site facilitated phosphate solubilization along with cadmium remediation," *Chemosphere*, vol. 287, p. 132320, Jan. 2022, doi: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.132320.
- [139] S. Khan, S. A. Ali, and A. S. Ali, "Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by mesophilic fungus '*Penicillium citrinum*' isolated from soils of plastic waste dump yard, Bhopal, India," *Environ Technol*, pp. 1–15, Feb. 2022, doi: 10.1080/09593330.2022.2027025.

- [140] G. Giangeri *et al.*, “Preliminary investigation of microorganisms potentially involved in microplastics degradation using an integrated metagenomic and biochemical approach,” *Science of The Total Environment*, vol. 843, p. 157017, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.157017.
- [141] B. Choi, J. S. Yu, G. Y. Kang, T. Y. Jeong, E. H. Jho, and S. J. Lee, “Pyrolytic Remediation and Ecotoxicity Assessment of Fuel-Oil-Contaminated Soil,” *Toxics*, vol. 10, no. 5, May 2022, doi: 10.3390/toxics10050245.
- [142] J. Barasarathi, H. Auwal, A. Pariatamby, F. S. Hamid, and E. C. Uche, “Phytoremediation of leachate contaminated soil: a biotechnical option for the bioreduction of heavy metals induced pollution in tropical landfill,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 29, no. 15, pp. 22069–22081, Mar. 2022, doi: 10.1007/s11356-021-17389-3.
- [143] M. Martínez-Ruiz *et al.*, “Micro-algae assisted green bioremediation of water pollutants rich leachate and source products recovery,” *Environmental Pollution*, vol. 306, p. 119422, Aug. 2022, doi: 10.1016/J.ENVPOL.2022.119422.
- [144] “Bioleaching of As from mine tailings using an autochthonous *Bacillus cereus* strain”.
- [145] A. Bhagwat, C. S. P. Ojha, A. Pant, and R. Kumar, “Interaction among Heavy Metals in Landfill Leachate and Their Effect on the Phytoremediation Process of Indian Marigold,” *J Hazard Toxic Radioact Waste*, vol. 27, no. 1, Jan. 2023, doi: 10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.0000731.
- [146] R. Praveen and R. Nagalakshmi, “Review on bioremediation and phytoremediation techniques of heavy metals in contaminated soil from dump site,” *Mater Today Proc*, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2022.07.190.
- [147] O. B. Ojuederie and O. O. Babalola, “Microbial and plant-assisted bioremediation of heavy metal polluted environments: A review,” Dec. 04, 2017, *MDPI*. doi: 10.3390/ijerph14121504.
- [148] Z. Liu and K. Q. Tran, “A review on disposal and utilization of phytoremediation plants containing heavy metals,” Dec. 15, 2021, *Academic Press*. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112821.
- [149] K. K. , Yadav, N. Gupta, V. , Kumar, and J. K. (2017) Singh, “Bioremediation of heavy metals from contaminated sites using potential species: a review,” *Indian J. Environ.*, vol. 1, no. 37, pp. 65–84, 2017.
- [150] A. Sayqal and O. B. Ahmed, “Advances in Heavy Metal Bioremediation: An Overview,” *Appl Bionics Biomech*, vol. 2021, pp. 1–8, Nov. 2021, doi: 10.1155/2021/1609149.
- [151] D. Padhan, P. P. Rout, R. Kundu, S. Adhikary, and P. P. Padhi, “Bioremediation of Heavy Metals and Other Toxic Substances by Microorganisms,” in *Soil Bioremediation*, Wiley, 2021, pp. 285–329. doi: 10.1002/9781119547976.ch12.
- [152] K. L. Law, “Plastics in the Marine Environment,” *Ann Rev Mar Sci*, vol. 9, no. 1, pp. 205–229, Jan. 2017, doi: 10.1146/annurev-marine-010816-060409.
- [153] J. Brahney, M. Hallerud, E. Heim, M. Hahnenberger, and S. Sukumaran, “Plastic rain in protected areas of the United States,” *Science (1979)*, vol. 368, no. 6496, pp. 1257–1260, Jun. 2020, doi: 10.1126/science.aaz5819.
- [154] L. Flandroy *et al.*, “The impact of human activities and lifestyles on the interlinked microbiota and health of humans and of ecosystems,” *Science of The Total Environment*, vol. 627, pp. 1018–1038, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.288.
- [155] E. C. , S. L. Brevik, B. R. , S. J. J. Singh, D. , B. P. Collier, and P. Pereira, “Soil and human health: current status and future needs,” *Soil and Water Research*, vol. 13, 2020, doi: 10.1177/1178622120934441.
- [156] P. Shrestha, K. Bellitürk, and J. Görres, “Phytoremediation of Heavy Metal-Contaminated Soil by Switchgrass: A Comparative Study Utilizing Different Composts and Coir Fiber on Pollution Remediation, Plant Productivity, and Nutrient Leaching,” *Int J Environ Res Public Health*, vol. 16, no. 7, p. 1261, Apr. 2019, doi: 10.3390/ijerph16071261.
- [157] Shilpa, N. Basak, and S. S. Meena, “Exploring the plastic degrading ability of microbial communities through metagenomic approach,” *Mater Today Proc*, vol. 57, pp. 1924–1932, 2022, doi: 10.1016/j.matpr.2022.02.308.
- [158] E. R. Rogers, R. S. Zalesny, and C.-H. Lin, “A systematic approach for prioritizing landfill pollutants based 1 on toxicity: Applications and opportunities,” 2021.

- [159] E. Zhang, H. Yan, C. Li, S. Tan, S. Chen, and H. Gao, "Tea saponin enhanced bioleaching of *Fusarium solani* to remove hexavalent chromium from soil," *Environmental Science and Pollution Research*, Sep. 2022, doi: 10.1007/s11356-022-23133-2.
- [160] K. Chander, P. C. Brookes, and S. A. Harding, "Microbial biomass dynamics following addition of metal-enriched sewage sludges to a sandy loam," *Soil Biol Biochem*, vol. 27, no. 11, pp. 1409–1421, Nov. 1995, doi: 10.1016/0038-0717(95)00074-O.
- [161] C. U. Emenike, B. Jayanthi, P. Agamuthu, and S. H. Fauziah, "Biotransformation and removal of heavy metals: a review of phytoremediation and microbial remediation assessment on contaminated soil," *Environmental Reviews*, vol. 26, no. 2, pp. 156–168, Jun. 2018, doi: 10.1139/er-2017-0045.
- [162] J. Iqbal, A. Javed, and M. A. Baig, "Heavy metals removal from dumpsite leachate by algae and cyanobacteria," 2022, *Taylor and Francis Ltd*. doi: 10.1080/10889868.2021.1884530.
- [163] C. Li *et al.*, "A Review on Heavy Metals Contamination in Soil: Effects, Sources, and Remediation Techniques," May 19, 2019, *Taylor and Francis Inc*. doi: 10.1080/15320383.2019.1592108.
- [164] "Soil Texture Calculator, NRCS Soils USDA. Link: <https://enviraj.com/online-tools/soil-texture-calculator.html>."
- [165] A. Baran, J. Wiczorek, R. Mazurek, K. Urbański, and A. Klimkowicz-Pawlas, "Potential ecological risk assessment and predicting zinc accumulation in soils," *Environ Geochem Health*, vol. 40, no. 1, pp. 435–450, Feb. 2018, doi: 10.1007/s10653-017-9924-7.
- [166] J. Espada, R. Rodríguez, V. Gari, P. Salcedo-Abraira, and L. Fernando Bautista, "Coupling phytoremediation of Pb-contaminated soil and biomass energy production: A comparative Life Cycle Assessment", doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156675i.
- [167] J. Sarwan and J. C. Bose K, "Role of Isolates of *Bacillus* Species for Biodegradation of Multiple Contaminants," *Journal of Sustainability and Environmental Management*, vol. 1, no. 2, pp. 292–298, May 2022, doi: 10.3126/josem.v1i2.45381.
- [168] M. Wróbel, W. Śliwakowski, P. Kowalczyk, K. Kramkowski, and J. Dobrzyński, "Bioremediation of Heavy Metals by the Genus *Bacillus*," *Int J Environ Res Public Health*, vol. 20, no. 6, p. 4964, Mar. 2023, doi: 10.3390/ijerph20064964.
- [169] E. K. Mitter, J. J. Germida, and J. R. de Freitas, "Impact of diesel and biodiesel contamination on soil microbial community activity and structure," *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, p. 10856, May 2021, doi: 10.1038/s41598-021-89637-y.
- [170] L. Shi, Z. Liu, L. Yang, and W. Fan, "Effects of oil pollution on soil microbial diversity in the Loess hilly areas, China," *Ann Microbiol*, vol. 72, no. 1, p. 26, Dec. 2022, doi: 10.1186/s13213-022-01683-7.
- [171] L. Li, S. Wang, X. Li, T. Li, X. He, and Y. Tao, "Effects of *Pseudomonas chenduensis* and biochar on cadmium availability and microbial community in the paddy soil," *Science of The Total Environment*, vol. 640–641, pp. 1034–1043, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.05.287.
- [172] Y. Li, C. Li, Y. Xin, T. Huang, and J. Liu, "Petroleum pollution affects soil chemistry and reshapes the diversity and networks of microbial communities," *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 246, p. 114129, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.114129.
- [173] Z. Gu, K. Feng, Y. Li, and Q. Li, "Microbial characteristics of the leachate contaminated soil of an informal landfill site," *Chemosphere*, vol. 287, p. 132155, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.132155.
- [174] Y. Liang, Q. Yin, Z. Jiang, H. Yan, and Y. Nian, "Pollution characteristics and microbial community succession of a rural informal landfill in an arid climate," *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 262, p. 115295, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115295.
- [175] Y. Wang *et al.*, "Insights into the stabilization of landfill by assessing the diversity and dynamic succession of bacterial community and its associated bio-metabolic process," *Science of The Total Environment*, vol. 768, p. 145466, May 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145466.
- [176] A. Das, N. Das, J. Rajkumari, P. Pandey, and P. Pandey, "Exploring the bioremediation potential of *Bacillus* spp. for sustainable mitigation of hydrocarbon contaminants," *Environmental Sustainability*, vol. 7, no. 2, pp. 135–156, Apr. 2024, doi: 10.1007/s42398-024-00309-9.
- [177] Y. Zhang *et al.*, "Enhancing the Phytoremediation of Heavy Metals by Combining Hyperaccumulator

- and Heavy Metal-Resistant Plant Growth-Promoting Bacteria,” *Front Plant Sci*, vol. 13, Jun. 2022, doi: 10.3389/fpls.2022.912350.
- [178] C. Galisteo, R. R. de la Haba, C. Sánchez-Porro, and A. Ventosa, “A step into the rare biosphere: genomic features of the new genus *Terrihalobacillus* and the new species *Aquibacillus salsiterrae* from hypersaline soils,” *Front Microbiol*, vol. 14, May 2023, doi: 10.3389/fmicb.2023.1192059.
 - [179] S. Harirchi *et al.*, “Bacillales: From Taxonomy to Biotechnological and Industrial Perspectives,” *Microorganisms*, vol. 10, no. 12, p. 2355, Nov. 2022, doi: 10.3390/microorganisms10122355.
 - [180] N. C. Vasques, M. A. Nogueira, and M. Hungria, “Increasing Application of Multifunctional *Bacillus* for Biocontrol of Pests and Diseases and Plant Growth Promotion: Lessons from Brazil,” *Agronomy*, vol. 14, no. 8, p. 1654, Jul. 2024, doi: 10.3390/agronomy14081654.
 - [181] E. Bach, C. P. Rangel, I. D. A. Ribeiro, and L. M. P. Passaglia, “Pangenome analyses of *Bacillus pumilus*, *Bacillus safensis*, and *Priestia megaterium* exploring the plant-associated features of bacilli strains isolated from canola,” *Molecular Genetics and Genomics*, vol. 297, no. 4, pp. 1063–1079, Jul. 2022, doi: 10.1007/s00438-022-01907-0.
 - [182] A. O. Adesemoye, M. Obini, and E. O. Ugoji, “Comparison of plant growth-promotion with *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in three vegetables,” *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 39, no. 3, pp. 423–426, Sep. 2008, doi: 10.1590/S1517-83822008000300003.
 - [183] Z. T. Baig, S. A. Abbasi, A. G. Memon, A. Naz, and A. F. Soomro, “Assessment of degradation potential of *Pseudomonas* species in bioremediating soils contaminated with petroleum hydrocarbons,” *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 97, no. 2, pp. 455–465, Feb. 2022, doi: 10.1002/jctb.6820.
 - [184] M.-S. Safdari, H.-R. Kariminia, Z. Ghobadi Nejad, and T. H. Fletcher, “Study Potential of Indigenous *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in Bioremediation of Diesel-Contaminated Water,” *Water Air Soil Pollut*, vol. 228, no. 1, p. 37, Jan. 2017, doi: 10.1007/s11270-016-3220-5.
 - [185] Z. Khatoon, S. Huang, M. Rafique, A. Fakhar, M. A. Kamran, and G. Santoyo, “Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems,” *J Environ Manage*, vol. 273, p. 111118, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.jenvman.2020.111118.
 - [186] D. Sharma, N. C. Gahtyari, R. Chhabra, and D. Kumar, “Role of Microbes in Improving Plant Growth and Soil Health for Sustainable Agriculture,” 2020, pp. 207–256. doi: 10.1007/978-981-15-3208-5_9.
 - [187] N. Yasin, W. Khan, S. Ahmad, A. Ahmad, W. Akram, and M. Ijaz, “Role of *Acinetobacter* sp. CS9 in Improving Growth and Phytoremediation Potential of *Catharanthus longifolius* under Cadmium Stress,” *Pol J Environ Stud*, vol. 28, no. 1, pp. 435–443, Nov. 2018, doi: 10.15244/pjoes/80806.
 - [188] J. Radó, E. Kaszab, T. Benedek, B. Kriszt, and S. Szoboszlay, “First isolation of carbapenem-resistant *Acinetobacter beijerinckii* from an environmental sample,” *Acta Microbiol Immunol Hung*, vol. 66, no. 1, pp. 113–130, Feb. 2019, doi: 10.1556/030.66.2019.004.
 - [189] A. Fakhar *et al.*, “Heavy metal remediation and resistance mechanism of *Aeromonas*, *Bacillus*, and *Pseudomonas*: A review,” *Crit Rev Environ Sci Technol*, vol. 52, no. 11, pp. 1868–1914, Jun. 2022, doi: 10.1080/10643389.2020.1863112.
 - [190] L. Huang, W. Wang, S. B. Shah, H. Hu, P. Xu, and H. Tang, “The HBCDs biodegradation using a *Pseudomonas* strain and its application in soil phytoremediation,” *J Hazard Mater*, vol. 380, p. 120833, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.120833.
 - [191] A. B. Medić and I. M. Karadžić, “*Pseudomonas* in environmental bioremediation of hydrocarbons and phenolic compounds- key catabolic degradation enzymes and new analytical platforms for comprehensive investigation,” *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 38, no. 10, p. 165, Oct. 2022, doi: 10.1007/s11274-022-03349-7.
 - [192] K. Ramadass, M. Megharaj, K. Venkateswarlu, and R. Naidu, “Bioavailability of weathered hydrocarbons in engine oil-contaminated soil: Impact of bioaugmentation mediated by *Pseudomonas* spp. on bioremediation,” *Science of The Total Environment*, vol. 636, pp. 968–974, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.379.
 - [193] C. Tao *et al.*, “Bio-organic fertilizers stimulate indigenous soil *Pseudomonas* populations to enhance plant disease suppression,” *Microbiome*, vol. 8, no. 1, p. 137, Dec. 2020, doi: 10.1186/s40168-020-00892-z.

- [194] A. Aguilar-Paredes, G. Valdés, and M. Nuti, "Ecosystem Functions of Microbial Consortia in Sustainable Agriculture," *Agronomy*, vol. 10, no. 12, p. 1902, Dec. 2020, doi: 10.3390/agronomy10121902.
- [195] Z. Usmani, M. Kulp, and T. Lukk, "Bioremediation of lindane contaminated soil: Exploring the potential of actinobacterial strains," *Chemosphere*, vol. 278, p. 130468, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.130468.
- [196] U. Wydro, E. Wołejko, G. Sokołowska, J. Leszczyński, and A. Jabłońska-Trypuć, "Investigating Landfill Leachate Influence on Soil Microbial Biodiversity and Its Cytotoxicity," *Water (Basel)*, vol. 14, no. 22, p. 3634, Nov. 2022, doi: 10.3390/w14223634.
- [197] E. K. Bünemann *et al.*, "Soil quality – A critical review," *Soil Biol Biochem*, vol. 120, pp. 105–125, May 2018, doi: 10.1016/j.soilbio.2018.01.030.
- [198] M. Muñoz-Rojas, "Soil quality indicators: critical tools in ecosystem restoration," *Curr Opin Environ Sci Health*, vol. 5, pp. 47–52, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.coesh.2018.04.007.
- [199] M. Schlöter, P. Nannipieri, S. J. Sørensen, and J. D. van Elsas, "Microbial indicators for soil quality," *Biol Fertil Soils*, vol. 54, no. 1, pp. 1–10, Jan. 2018, doi: 10.1007/s00374-017-1248-3.
- [200] S. Collado, P. Oulego, O. Suárez-Iglesias, and M. Díaz, "Leachates and natural organic matter. A review of their biotreatment using fungi," Aug. 01, 2019, *Elsevier Ltd.* doi: 10.1016/j.wasman.2019.07.018.
- [201] A. Mojiri *et al.*, "Treatment of landfill leachate with different techniques: An overview," *Journal of Water Reuse and Desalination*, vol. 11, no. 1, pp. 66–96, 2021, doi: 10.2166/wrd.2020.079.
- [202] B. S. Alotaibi, M. Khan, and S. Shamim, "Unraveling the Underlying Heavy Metal Detoxification Mechanisms of Bacillus Species," *Microorganisms*, vol. 9, no. 8, p. 1628, Jul. 2021, doi: 10.3390/microorganisms9081628.
- [203] S. Chaturvedi and S. M. P. Khurana, "Importance of Actinobacteria for Bioremediation," in *Plant Biotechnology: Progress in Genomic Era*, Singapore: Springer Singapore, 2019, pp. 277–307. doi: 10.1007/978-981-13-8499-8_13.
- [204] M. Arce-Inga *et al.*, "Bioremediation Potential of Native Bacillus sp. Strains as a Sustainable Strategy for Cadmium Accumulation of Theobroma cacao in Amazonas Region," *Microorganisms*, vol. 10, no. 11, p. 2108, Oct. 2022, doi: 10.3390/microorganisms10112108.
- [205] P. K. Arora, "Bacilli-Mediated Degradation of Xenobiotic Compounds and Heavy Metals," *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 8, Oct. 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.570307.
- [206] A. Raio and G. Puopolo, "Pseudomonas chlororaphis metabolites as biocontrol promoters of plant health and improved crop yield," *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 37, no. 6, p. 99, Jun. 2021, doi: 10.1007/s11274-021-03063-w.
- [207] S. Sah, S. Krishnani, and R. Singh, "Pseudomonas mediated nutritional and growth promotional activities for sustainable food security," *Curr Res Microb Sci*, vol. 2, p. 100084, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.crmicr.2021.100084.
- [208] K. K. Shah *et al.*, "Role of soil microbes in sustainable crop production and soil health: A review," *Agricultural Science and Technology*, vol. 13, no. Volume 13, Issue 2, pp. 109–118, Jun. 2021, doi: 10.15547/ast.2021.02.019.
- [209] S. S. Bhattacharyya and K. Furtak, "Soil–Plant–Microbe Interactions Determine Soil Biological Fertility by Altering Rhizospheric Nutrient Cycling and Biocrust Formation," *Sustainability*, vol. 15, no. 1, p. 625, Dec. 2022, doi: 10.3390/su15010625.
- [210] A. N. Yadav *et al.*, "Biodiversity, and biotechnological contribution of beneficial soil microbiomes for nutrient cycling, plant growth improvement and nutrient uptake," *Biocatal Agric Biotechnol*, vol. 33, p. 102009, May 2021, doi: 10.1016/j.bcab.2021.102009.
- [211] L. Sekhohola-Dlamini and M. Tekere, "Microbiology of municipal solid waste landfills: a review of microbial dynamics and ecological influences in waste bioprocessing," *Biodegradation*, vol. 31, no. 1–2, pp. 1–21, Apr. 2020, doi: 10.1007/s10532-019-09890-x.
- [212] D. Li *et al.*, "Vadose-zone characteristic pollutants distribution, microbial community structure and functionality changes in response to long-term leachate pollution of an informal landfill site," *Science of The Total Environment*, vol. 948, p. 174596, Oct. 2024, doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.174596.
- [213] Z. He *et al.*, "Microbial Functional Gene Diversity Predicts Groundwater Contamination and Ecosystem

- Functioning,” *mBio*, vol. 9, no. 1, Mar. 2018, doi: 10.1128/mBio.02435-17.
- [214] D. Abiriga, A. Jenkins, K. Alfsnes, L. S. Vestgarden, and H. Klempe, “Characterisation of the bacterial microbiota of a landfill-contaminated confined aquifer undergoing intrinsic remediation,” *Science of The Total Environment*, vol. 785, p. 147349, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147349.
- [215] R. Sharma *et al.*, “An insight into the mechanism of ‘symbiotic-bioremoval’ of heavy metal ions from synthetic and industrial samples using bacterial consortium,” *Environ Technol Innov*, vol. 21, p. 101302, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.eti.2020.101302.
- [216] L. Ma, B. Li, and T. Zhang, “New insights into antibiotic resistome in drinking water and management perspectives: A metagenomic based study of small-sized microbes,” *Water Res*, vol. 152, pp. 191–201, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.watres.2018.12.069.
- [217] C. Dang *et al.*, “Metagenomic insights into the profile of antibiotic resistomes in a large drinking water reservoir,” *Environ Int*, vol. 136, p. 105449, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.envint.2019.105449.
- [218] A. Moustafa, M. Hamzeh, S. Net, M. Baroudi, and B. Ouddane, “Seasonal variation of leachate from municipal solid waste landfill of Tripoli–Lebanon (case study),” *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 20, no. 11, pp. 12545–12558, Nov. 2023, doi: 10.1007/s13762-023-04834-8.
- [219] T. Mukherjee and S. Pal, “Emerging environmental contaminants: Fate at landfill sites and in leachate,” in *Solid Waste Management for Resource-Efficient Systems*, Elsevier, 2024, pp. 85–113. doi: 10.1016/B978-0-443-23775-1.00009-6.
- [220] U. Anand *et al.*, “Potential Environmental and Human Health Risks Caused by Antibiotic-Resistant Bacteria (ARB), Antibiotic Resistance Genes (ARGs) and Emerging Contaminants (ECs) from Municipal Solid Waste (MSW) Landfill,” *Antibiotics*, vol. 10, no. 4, p. 374, Apr. 2021, doi: 10.3390/antibiotics10040374.
- [221] A. Alengebawy, S. T. Abdelkhalek, S. R. Qureshi, and M.-Q. Wang, “Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications,” *Toxics*, vol. 9, no. 3, p. 42, Feb. 2021, doi: 10.3390/toxics9030042.
- [222] G. Li, G. -X. Sun, Y. Ren, X. -S. Luo, and Y. -G. Zhu, “Urban soil and human health: a review,” *Eur J Soil Sci*, vol. 69, no. 1, pp. 196–215, Jan. 2018, doi: 10.1111/ejss.12518.
- [223] H. Meena and B. Siddhardha, “Microbial Efflux Pump -Specific Determinant to Fight Against the Antimicrobial Resistance in Pathogenic Strains,” *Curr Chem Biol*, vol. 12, no. 2, pp. 135–149, Aug. 2018, doi: 10.2174/2212796812666180308150420.
- [224] K. L. Kalantar *et al.*, “IDseq—An open source cloud-based pipeline and analysis service for metagenomic pathogen detection and monitoring,” *Gigascience*, vol. 9, no. 10, Oct. 2020, doi: 10.1093/gigascience/giaa111.
- [225] J. J. Steffan, E. C. Brevik, L. C. Burgess, and A. Cerdà, “The effect of soil on human health: an overview,” *Eur J Soil Sci*, vol. 69, no. 1, pp. 159–171, Jan. 2018, doi: 10.1111/ejss.12451.
- [226] D. G. J. Larsson and C.-F. Flach, “Antibiotic resistance in the environment,” *Nat Rev Microbiol*, vol. 20, no. 5, pp. 257–269, May 2022, doi: 10.1038/s41579-021-00649-x.
- [227] I. Silva, M. Tação, and I. Henriques, “Selection of antibiotic resistance by metals in a riverine bacterial community,” *Chemosphere*, vol. 263, p. 127936, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127936.
- [228] N. Remmas, N. Manfe, I. Zerva, P. Melidis, R. Raga, and S. Ntougias, “A Critical Review on the Microbial Ecology of Landfill Leachate Treatment Systems,” *Sustainability*, vol. 15, no. 2, p. 949, Jan. 2023, doi: 10.3390/su15020949.
- [229] Y. Liu, J. Zhang, S. Yang, and H. Yang, “Biodegradation and removal of heavy oil using *Pseudomonas* sp. and *Bacillus* spp. isolated from oily sludge and wastewater in Xinjiang Oilfield, China,” *J Environ Chem Eng*, vol. 11, no. 3, p. 110123, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.jece.2023.110123.
- [230] C. Emenike, P. Omo-Okoro, A. Pariatamby, J. Barasarathi, and F. S. Hamid, “Remediation of Leachate-Metal-Contaminated Soil Using Selected Bacterial Consortia,” *Soil Syst*, vol. 8, no. 1, p. 33, Mar. 2024, doi: 10.3390/soilsystems8010033.
- [231] M. Romantschuk *et al.*, “Bioremediation of contaminated soil and groundwater by in situ biostimulation,” *Front Microbiol*, vol. 14, Nov. 2023, doi: 10.3389/fmicb.2023.1258148.

- [232] W. Li, Y. Zhang, W. Mao, C. Wang, and S. Yin, "Functional potential differences between *Firmicutes* and *Proteobacteria* in response to manure amendment in a reclaimed soil," *Can J Microbiol*, vol. 66, no. 12, pp. 689–697, Dec. 2020, doi: 10.1139/cjm-2020-0143.
- [233] J. C. Xavier *et al.*, "Evaluation of the microbial diversity and heavy metal resistance genes of a microbial community on contaminated environment," *Applied Geochemistry*, vol. 105, pp. 1–6, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.apgeochem.2019.04.012.
- [234] G. Gebreyohannes, A. Nyerere, C. Bii, and D. B. Sbhatu, "Challenges of intervention, treatment, and antibiotic resistance of biofilm-forming microorganisms," *Heliyon*, vol. 5, no. 8, p. e02192, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02192.
- [235] G. Arregui *et al.*, "Mercury-Tolerant *Ensifer medicae* Strains Display High Mercuric Reductase Activity and a Protective Effect on Nitrogen Fixation in *Medicago truncatula* Nodules Under Mercury Stress," *Front Plant Sci*, vol. 11, Jan. 2021, doi: 10.3389/fpls.2020.560768.
- [236] M. Robas Mora, V. M. Fernández Pastrana, D. González Reguero, L. L. Gutiérrez Oliva, A. Probanza Lobo, and P. A. Jiménez Gómez, "Oxidative stress protection and growth promotion activity of *Pseudomonas mercuritolerans* sp. nov., in forage plants under mercury abiotic stress conditions," *Front Microbiol*, vol. 13, Dec. 2022, doi: 10.3389/fmicb.2022.1032901.
- [237] A. Antunes dos Santos *et al.*, "Oxidative Stress in Methylmercury-Induced Cell Toxicity," *Toxics*, vol. 6, no. 3, p. 47, Aug. 2018, doi: 10.3390/toxics6030047.
- [238] M. Fujimura and F. Usuki, "Methylmercury-Mediated Oxidative Stress and Activation of the Cellular Protective System," *Antioxidants*, vol. 9, no. 10, p. 1004, Oct. 2020, doi: 10.3390/antiox9101004.
- [239] B. E. Guerra Sierra, L. A. Arteaga-Figueroa, S. Sierra-Pelaéz, and J. C. Alvarez, "Talaromyces santanderensis: A New Cadmium-Tolerant Fungus from Cacao Soils in Colombia," *Journal of Fungi*, vol. 8, no. 10, p. 1042, Oct. 2022, doi: 10.3390/jof8101042.
- [240] A. Paskuliakova, T. McGowan, S. Tonry, and N. Touzet, "Microalgal bioremediation of nitrogenous compounds in landfill leachate – The importance of micronutrient balance in the treatment of leachates of variable composition," *Algal Res*, vol. 32, pp. 162–171, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.algal.2018.03.010.
- [241] Y. Zhang *et al.*, "Cooperation between two strains of *Enterobacter* and *Klebsiella* in the simultaneous nitrogen removal and phosphate accumulation processes," *Bioresour Technol*, vol. 291, p. 121854, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.biortech.2019.121854.
- [242] J. Wang, R. Li, H. Zhang, G. Wei, and Z. Li, "Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application," *BMC Microbiol*, vol. 20, no. 1, p. 38, Dec. 2020, doi: 10.1186/s12866-020-1708-z.
- [243] J. Sarkar, A. Roy, P. Sar, and S. K. Kazy, "Accelerated bioremediation of petroleum refinery sludge through biostimulation and bioaugmentation of native microbiome," in *Emerging Technologies in Environmental Bioremediation*, Elsevier, 2020, pp. 23–65. doi: 10.1016/B978-0-12-819860-5.00002-X.
- [244] P. Rawat, S. Das, D. Shankhdhar, and S. C. Shankhdhar, "Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake," *J Soil Sci Plant Nutr*, vol. 21, no. 1, pp. 49–68, Mar. 2021, doi: 10.1007/s42729-020-00342-7.
- [245] J. Gao, H. Han, C. Gao, Y. Wang, B. Dong, and Z. Xu, "Organic amendments for in situ immobilization of heavy metals in soil: A review," *Chemosphere*, vol. 335, p. 139088, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.chemosphere.2023.139088.
- [246] G. Dey *et al.*, "Management of Phosphorus in Salinity-Stressed Agriculture for Sustainable Crop Production by Salt-Tolerant Phosphate-Solubilizing Bacteria—A Review," *Agronomy*, vol. 11, no. 8, p. 1552, Aug. 2021, doi: 10.3390/agronomy11081552.
- [247] J. Pan *et al.*, "Effect of salinization on soil properties and mechanisms beneficial to microorganisms in salinized soil remediation—a review," *Research in Cold and Arid Regions*, vol. 16, no. 3, pp. 121–128, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.rcar.2024.07.001.
- [248] H. Aponte *et al.*, "Meta-analysis of heavy metal effects on soil enzyme activities," *Science of The Total Environment*, vol. 737, p. 139744, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139744.
- [249] T. Jin *et al.*, "A soybean sodium/hydrogen exchanger GmNHX6 confers plant alkaline salt tolerance by regulating Na⁺/K⁺ homeostasis," *Front Plant Sci*, vol. 13, Sep. 2022, doi: 10.3389/fpls.2022.938635.

- [250] O. B. Ojuederie and O. O. Babalola, "Growth enhancement and extenuation of drought stress in maize inoculated with multifaceted ACC deaminase producing rhizobacteria," *Front Sustain Food Syst*, vol. 6, Jan. 2023, doi: 10.3389/fsufs.2022.1076844.
- [251] J. Sardans and J. Peñuelas, "Potassium Control of Plant Functions: Ecological and Agricultural Implications," *Plants*, vol. 10, no. 2, p. 419, Feb. 2021, doi: 10.3390/plants10020419.
- [252] R. Johnson *et al.*, "Potassium in plants: Growth regulation, signaling, and environmental stress tolerance," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 172, pp. 56–69, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.plaphy.2022.01.001.
- [253] C. Kumawat *et al.*, "Microbial Diversity and Adaptation under Salt-Affected Soils: A Review," *Sustainability*, vol. 14, no. 15, p. 9280, Jul. 2022, doi: 10.3390/su14159280.
- [254] K. Xie, I. Cakmak, S. Wang, F. Zhang, and S. Guo, "Synergistic and antagonistic interactions between potassium and magnesium in higher plants," *Crop J*, vol. 9, no. 2, pp. 249–256, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.cj.2020.10.005.
- [255] S. Kundu, S. J. Perinjelil, and N. Thakur, "Soil salinization and bioremediation using halophiles and halotolerant microorganisms," in *Mitigation of Plant Abiotic Stress by Microorganisms*, Elsevier, 2022, pp. 231–256. doi: 10.1016/B978-0-323-90568-8.00011-0.
- [256] J. Qin, C. Zhang, Z. Chen, X. Wang, Y. Zhang, and L. Guo, "Converting wastes to resource: Utilization of dewatered municipal sludge for calcium-based biochar adsorbent preparation and land application as a fertilizer," *Chemosphere*, vol. 298, p. 134302, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.134302.
- [257] A. Nabayi, C. Boon Sung Teh, N. Paing Tan, and A. Kee Zuan Tan, "Nutrient Leaching Losses from Continuous Application of Washed Rice Water on Three Contrasting Soil Textures," *Pertanika J Sci Technol*, vol. 31, no. 4, Jun. 2023, doi: 10.47836/pjst.31.4.20.
- [258] M.-D. Yu *et al.*, "Fate and removal of aromatic organic matter upon a combined leachate treatment process," *Chemical Engineering Journal*, vol. 401, p. 126157, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.cej.2020.126157.
- [259] D. Neina, "The Role of Soil pH in Plant Nutrition and Soil Remediation," *Appl Environ Soil Sci*, vol. 2019, pp. 1–9, Nov. 2019, doi: 10.1155/2019/5794869.
- [260] M. Naz *et al.*, "The soil pH and heavy metals revealed their impact on soil microbial community," *J Environ Manage*, vol. 321, p. 115770, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.jenvman.2022.115770.
- [261] M. A. M. Bergamasco, L. B. Braos, I. Guidini Lopes, and M. C. P. Cruz, "Nitrogen Mineralization and Nitrification in Two Soils with Different pH Levels," *Commun Soil Sci Plant Anal*, vol. 50, no. 22, pp. 2873–2880, Dec. 2019, doi: 10.1080/00103624.2019.1689250.
- [262] W. Zhao, J. Zhang, C. Müller, and Z. Cai, "Effects of pH and mineralisation on nitrification in a subtropical acid forest soil," *Soil Research*, vol. 56, no. 3, p. 275, 2018, doi: 10.1071/SR17087.
- [263] J. P. Schimel, "Life in Dry Soils: Effects of Drought on Soil Microbial Communities and Processes," *Annu Rev Ecol Evol Syst*, vol. 49, no. 1, pp. 409–432, Nov. 2018, doi: 10.1146/annurev-ecolsys-110617-062614.
- [264] J. Hernández-Canseco, A. Bautista-Cruz, S. Sánchez-Mendoza, T. Aquino-Bolaños, and P. S. Sánchez-Medina, "Plant Growth-Promoting Halobacteria and Their Ability to Protect Crops from Abiotic Stress: An Eco-Friendly Alternative for Saline Soils," *Agronomy*, vol. 12, no. 4, p. 804, Mar. 2022, doi: 10.3390/agronomy12040804.
- [265] J. Esbelin, T. Santos, and M. Hébraud, "Desiccation: An environmental and food industry stress that bacteria commonly face," *Food Microbiol*, vol. 69, pp. 82–88, Feb. 2018, doi: 10.1016/j.fm.2017.07.017.
- [266] H. Chen *et al.*, "Biochar increases plant growth and alters microbial communities via regulating the moisture and temperature of green roof substrates," *Science of The Total Environment*, vol. 635, pp. 333–342, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.127.
- [267] E. Abatenh, B. Gizaw, Z. Tsegaye, and M. Wassie, "The Role of Microorganisms in Bioremediation- A Review," *Open J Environ Biol*, vol. 2, no. 1, pp. 38–046, 2017, doi: 10.17352/ojeb.
- [268] C. O. Asadu *et al.*, "Investigation of the influence of biofertilizer synthesized using microbial inoculums on the growth performance of two agricultural crops," *Biotechnology Reports*, vol. 27, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.btre.2020.e00493.

- [269] S. Voběrková *et al.*, “Effect of inoculation with white-rot fungi and fungal consortium on the composting efficiency of municipal solid waste,” *Waste Management*, vol. 61, pp. 157–164, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.wasman.2016.12.039.
- [270] S. Voběrková *et al.*, “Effect of inoculation with white-rot fungi and fungal consortium on the composting efficiency of municipal solid waste,” *Waste Management*, vol. 61, pp. 157–164, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.wasman.2016.12.039.
- [271] N. S. Velichko, V. S. Grinev, and Y. P. Fedonenko, “Characterization of biopolymers produced by planktonic and biofilm cells of *Herbaspirillum lusitanum* P6-12,” *J Appl Microbiol*, vol. 129, no. 5, pp. 1349–1363, Nov. 2020, doi: 10.1111/jam.14647.
- [272] Y. Chen *et al.*, “Advances in bacterial whole-cell biosensors for the detection of bioavailable mercury: A review,” *Science of The Total Environment*, vol. 868, p. 161709, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.161709.
- [273] M. Priyadarshane, S. Chatterjee, S. Rath, H. R. Dash, and S. Das, “Cellular and genetic mechanism of bacterial mercury resistance and their role in biogeochemistry and bioremediation,” *J Hazard Mater*, vol. 423, p. 126985, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126985.
- [274] R. C. Kasana and C. B. Pandey, “*Exiguobacterium* : an overview of a versatile genus with potential in industry and agriculture,” *Crit Rev Biotechnol*, vol. 38, no. 1, pp. 141–156, Jan. 2018, doi: 10.1080/07388551.2017.1312273.
- [275] L. Meyer, S. Guyot, M. Chalot, and N. Capelli, “The potential of microorganisms as biomonitoring and bioremediation tools for mercury-contaminated soils,” *Ecotoxicol Environ Saf*, vol. 262, p. 115185, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.ecoenv.2023.115185.