

Revalorización del compost agotado de hongos aplicado en la biorremediación de un suelo crónicamente contaminado con hidrocarburos

Débora Conde Molina, Franco Liporace, Carla Quevedo

Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Delta, Departamento de Química, Grupo de Biotecnología y Nanotecnología Aplicada, San Martín 1171, 2804, Campana, Buenos Aires, Argentina

dconde@frd.utn.edu.ar

Recibido el 21 de diciembre de 2021, aprobado el 21 de febrero de 2022

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la viabilidad de diferentes estrategias de tratamiento de biorremediación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos, mediante la utilización de compost agotado de hongos. Fueron diseñados microcosmos con el agregado de 10, 20 y 50 % p/p de compost agotado y un tratamiento control correspondiente a la atenuación natural, los cuales se monitorearon durante 90 días. La utilización del compost de agotado sobre los suelos a tratar, produjo un aumento significativo del recuento de bacterias totales y bacterias degradadoras dando lugar a una disminución en el contenido de los hidrocarburos totales comparado con el tratamiento control. De esta manera, se logró remover hasta 90% de hidrocarburos totales a los 60 días de tratamiento.

PALABRAS CLAVE: COMPOST AGOTADO DE HONGOS - HIDROCARBUROS - BIORREMEDIACIÓN - MICROCOSMO

Abstract

The aim of this work was to evaluate the feasibility of different bioremediation treatment strategies for the treatment of soils chronically contaminated with hydrocarbons, using spent mushroom compost. Microcosms were designed with the addition of 10, 20 and 50 % w/w of spent compost and a control treatment corresponding to natural attenuation, which were monitored for 90 days. The addition of this industrial waste on the soils produced a significant increase in the total bacterial and degrading bacteria counts, leading to a decrease in the total hydrocarbon content when compared to the control treatment. In this way, up to 90% of total hydrocarbons, after 60 days of treatment were removed.

KEYWORDS: SPENT MUSHROOM SUBSTRATE - HYDROCARBONS - BIOREMEDIATION - MICROCOSMS

Introducción

Desde hace varias décadas los residuos agroindustriales han sido un foco de atención a nivel mundial, debido a que parte de sus constituyentes pueden ser empleados como materia prima para generar diversos productos de interés. La búsqueda de materias de bajo costo y fácil adquisición que puedan ser utilizados en bioprocesos constituye uno de los retos más interesantes de la biotecnología actual. Además de la importancia económica que ello supone para la producción de productos de mayor valor agregado (enzimas, proteína unicelular, pigmentos, antibióticos, etc.), la utilización de residuos agroindustriales tiene incidencia en la preservación del medio ambiente, al considerar el desarrollo de tecnologías orientadas hacia una transformación sustentable de los recursos naturales (Chundawat *et al.*, 2011; Erikson *et al.*, 2012; Gallegos *et al.*, 2016). En este sentido, existe la necesidad de atender, de una manera ambientalmente responsable, la disposición final de los residuos que ya no pueden ser reutilizados, tomando como base el marco regulatorio vigente, para evitar que se conviertan en contaminantes de suelos y aguas, incluidas las subterráneas.

Este trabajo se desarrolla en el contexto de las problemáticas medioambientales del corredor agroindustrial del nordeste de la Provincia de Buenos Aires. Como es el caso de los pasivos ambientales generados de la actividad industrial de los últimos 100 años (Laborde, *et al.* 2013), tales como sitios crónicamente contaminados con hidrocarburos originados de la presencia de la industria petroquímica en la región.

La tendencia para descontaminar sitios es emplear tecnologías amigables con el ambiente como ocurre con la biorremediación, la cual resulta simple y económica. El propósito de la biorremediación es potenciar los procesos naturales de biodegradación mediante la optimización de los parámetros limitantes del sistema (Ossai *et al.*, 2020). Estos procesos de degradación incluyen la mineralización o transformación de los contaminantes en formas menos tóxicas por la acción de los microorganismos. La eficacia de la biodegradación de un contaminante puede verse limitada por la cantidad de las comunidades microbianas degradadoras y la naturaleza del medio contaminado, tales como la presencia de nutrientes orgánicos que puedan afectar al crecimiento microbiano y al metabolismo del compuesto en cuestión (Singh, *et al.*, 2008).

Frente a esta situación, suelen abordarse dos estrategias de biorremediación, la técnica de bioaumentación y la técnica de bioestimulación. La primera consta en la inoculación de microorganismos que aportan funciones metabólicas para aumentar la velocidad y el grado de biodegradación de los contaminantes, mientras que la segunda consiste en incrementar la actividad de los microorganismos autóctonos por medio de la adición de nutrientes o sustratos para potenciar la velocidad de degradación de los contaminantes en un sitio.

El uso de residuos agroindustriales que aportan nutrientes, como nitrógeno, fósforo y potasio, contribuyen a resolver el problema de la limitación de nutrientes en los sitios contaminados (Lim *et al.*, 2016). Los residuos orgánicos inciden sobre la estructura y la fertilidad del suelo al añadir nutrientes esenciales, mejorando propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos (Azubuike *et al.*, 2016). Anteriormente se reportaron resultados prometedores de biorremediación mediante el uso de residuos agro-industriales como bagazo de caña de azúcar, residuo de maíz, cáscara de banana, grano de cebada agotado, cáscara de zanahoria, incluido el compost agotado de hongos (CAH) (Molina Barahona *et al.*, 2004; Abioye *et al.*, 2010; Di Gregorio *et al.*, 2016; Hamoudi-Belarbi *et al.*, 2018). La industria productora de setas comestibles, como *Agaricus bisporus* y *A. bisporus* var *brunnescens*, genera grandes cantidades de residuos de compost agotado, dado que a partir de la producción de 1 kg de setas pueden generarse 5 kg de compost agotado. El compost suele estar compuesto por una mezcla compostada de paja de trigo y estiércol de caballo, con el agregado de otros residuos como grano de cebada agotado. Luego de agotado para la producción de hongos, aún contiene altos niveles de nutrientes, como nitrógeno, fósforo, potasio, una amplia gama de oligoelementos, enzimas y vitaminas, los cuales pueden ser aprovechados en un nuevo

bioproceso (Ahlawat *et al.*, 2010; Marín Benito *et al.*, 2016; Leong *et al.* 2022).

El objetivo de este estudio es evaluar la eficacia del agregado del CAH en la biodegradación de hidrocarburos de suelos crónicamente contaminados. Tanto el compost agotado de hongos como el suelo contaminado con hidrocarburos provienen de dos industrias que coexisten en la región de estudio.

Parte experimental

Caracterización del suelo y del compost agotado de hongos

El suelo contaminado con hidrocarburos fue tomado dentro del predio de la refinería RHASA (34°10' 5.1" S, 58°56' 23" W). La muestra fue tomada de la capa superficial (hasta 20 cm de profundidad) y se tamizó con una malla de 10 mm. El análisis del tamaño de las partículas se realizó mediante una combinación de tamizado en húmedo (arena) y sedimentación (limo y arcilla) (Gee y Baude, 1986).

El CAH de *A. bisporus var brunnescens* se obtuvo de una industria productora de hongos de la zona, ubicada a 30 km de la refinería. Dicho compost estaba compuesto por paja de trigo, estiércol de caballo y grano de cebada agotado (proveniente de la industria cervecera).

Tanto en el suelo como en el CAH se determinó el contenido de agua por gravimetría secando las muestras a 105°C hasta peso constante. El pH se midió sobre una mezcla de muestra-agua (1:2) después de 30 min de reposo, empleando un pH-metro.

Diseño de microcosmos

El suelo contaminado con hidrocarburos se dispuso en frascos cilíndricos de vidrio (60 mm de diámetro y 360 ml de volumen), cada uno de los cuales contenía 200 g de mezcla. Se llevaron a cabo 4 tratamientos según se indica en la Tabla 1. Cada condición se realizó por triplicado. Los frascos se mantuvieron a temperatura ambiente (20-25 °C) durante 90 días. El contenido de cada sistema se mezcló asépticamente cada 15 días y se controló la humedad (mín. 35 %) mediante la adición de agua cuando fue necesario. Se tomaron muestras cada 30 días, sobre las cuales se determinó, la temperatura, el pH, la actividad biológica y la concentración de hidrocarburos totales (HT) (Conde Molina *et al.*, 2019).

Tabla 1. Sistemas de microcosmos

Sistema	Condición
C	Control atenuación natural
B10	Biorremediación con 10 % p/p de CAH
B20	Biorremediación con 20 % p/p de CAH
B50	Biorremediación con 50 % p/p de CAH

Actividad biológica

Se colocó 1 g de muestra en 10 ml de NaCl 0,9% estéril, y luego se realizaron diluciones seriadas. Las mismas fueron sembradas en placas de Petri conteniendo por un lado agar-LB, para el recuento de bacterias heterotróficas aerobias totales (BHAT); y por otro lado en placas con agar-MSM suplementado con una mezcla de hidrocarburos como única fuente de carbono, para el recuento de bacterias degradadoras de hidrocarburos (BDH). Todas las placas se incubaron a 25°C, durante 2 días para el recuento de BHAT y durante 5 días para el recuento de BDH. Los resultados del recuento fueron expresados como unidades

formadoras de colonias por gramo de peso seco (UFC/ g).

Determinación de hidrocarburos

Para la cuantificación de hidrocarburos, las muestras fueron tratadas con diclorometano y el extracto se analizó mediante un cromatógrafo gaseoso *GC-2010 Plus* (Shimadzu, Corp., Japón) según Conde Molina *et al.* 2019. Las concentraciones de HT se determinaron mediante el uso de los estándares *50.16.512 Gravimetric Standard DHA Classis* (PAC) y *Alcanes Mix C8-C40* (Accustandard).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software *Statgraphics Centurion XVII* (Statpoint Technologies, EE.UU.). Las diferencias significativas se determinaron a $p < 0,05$ mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y la prueba HSD de Tukey.

Resultados y discusión

La caracterización inicial del suelo empleado en este estudio presentó una textura franco-arenosa (8,6% de arcilla, 16,1% de limo y 75,9% de arena). Se determinó el contenido de agua de $38,5 \pm 0,6$ % y el pH de $7,96 \pm 0,05$. Este suelo mostró una concentración inicial de 8.376 ± 283 mg/kg de HT. En Argentina el Decreto reglamentario 831/93 de la Ley Nacional 24.051/91 de Residuos Peligrosos no establece niveles guía de calidad para concentraciones de HT en suelo, por lo que se consideran los valores de intervención de la Política de Suelo de Holanda. Por lo tanto, teniendo en cuenta la Norma Holandesa, la concentración de HT del suelo en estudio se encuentra por encima de la concentración establecida de intervención (5.000 mg/kg). Es por tal motivo que se presenta la necesidad de realizar estudios tendientes a la remediación del sitio.

Con respecto al CAH utilizado en este estudio, presentó $48,7 \pm 0,9$ % de contenido de agua y $8,02 \pm 0,04$ de pH. Es importante destacar que el CAH empleado en los microcosmos no tuvo un proceso de acondicionamiento, es decir que se aplicó fresco tal cual salió de la industria productora de hongos. De esta manera, se pretende conocer el potencial la aplicación del mismo como estrategia de remediación, evitando costos de acondicionamiento. A partir del monitoreo de los ensayos de los microcosmos se observó que la temperatura promedio del suelo fue $23,9 \pm 4,2$ °C durante el experimento. La humedad inicial fue

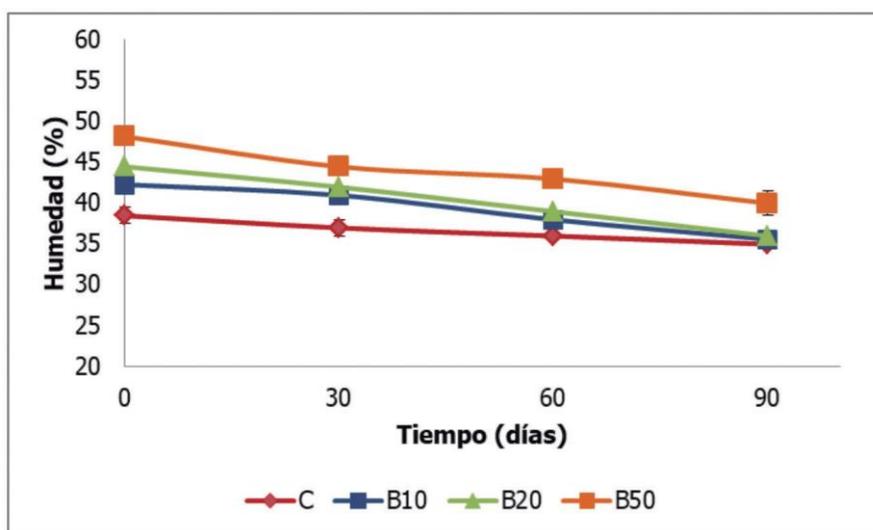


Fig. 1. Determinación de humedad en los sistemas C (atenuación natural); B10, B20 y B50 (biorremediación con CAH al 10, 20 y 50 % p/p respectivamente) durante el ensayo de microcosmos

38,21; 42,38; 43,25 y 48,35 % para C, B10, B20 y B50, respectivamente. Esto indica que el CAH aportó humedad al inicio del ensayo, ya que en los sistemas B10, B20 y B50 se mantuvo la humedad por encima del 35 % y no requirió el agregado de agua durante los 120 días. En cambio, al sistema C se le adicionó agua con el fin de mantener todas las condiciones con humedad mayor a 35%.

Debido a su composición, se considera al CAH un residuo que contribuye a mantener las propiedades físicas e hidrológicas del suelo, ya que disminuye la densidad aparente y aumenta la capacidad de retención de agua (Marín Benito *et al.*, 2016). En la Figura 1 se puede observar este efecto mediante las curvas de humedad.

En el caso de la medición del pH, se observó que todos los sistemas presentaron un pH inicial sin diferencias significativas ($p > 0,05$). Sin embargo, a los 30 días, los sistemas B10, B20 y B50 mostraron valores (7,60; 7,57; 7,47 %) inferiores al sistema C (7,78 %). Al final del ensayo en todas las condiciones se registraron valores de pH similares ($p > 0,05$) (Figura 2), obteniéndose un valor promedio de $7,15 \pm 0,05$. Este valor de pH es similar a los reportados anteriormente en ensayos de atenuación natural realizados con este suelo (Conde Molina *et al.*, 2019). Otras publicaciones han mostrado que los tratamientos de suelos con CAH presentaron un pH más bajo que los tratamientos controles, atribuible al uso de CAH con un pH inicial ácido (4-6), y también, debido a la producción de ácidos orgánicos secretados por los hongos vivos en el compost (Wang *et al.*, 2016; Douglas *et al.*, 2020). Este último efecto podría ser el que se observa a los 30 días, aunque luego a los 60 y 90 días se observa que la actividad microbiana amortigua este efecto. Por otro lado, se considera que el CAH puede subir el pH de los suelos cuando en su contenido tiene cal (Okerentugba *et al.*, 2015). En este trabajo el agregado de CAH no llegó a generar este tipo de cambio del pH ya que originalmente el suelo y el CAH presentaron un pH similar.

La actividad microbiana de los microcosmos mostró que los recuentos de BHT aumentaron un orden de magnitud en todos los sistemas a lo largo del ensayo, obteniéndose $1,52 \times 10^9$; $5,05 \times 10^9$; $7,00 \times 10^9$ y $9,02 \times 10^9$ UFC/g para C, B10, B20 y B50, respectivamente, a los 90 días. Sin embargo, se observó que inicialmente los sistemas B10, B20 y B50 presentaron mayores recuentos de BHAT que C ($p < 0,05$) (Figura 4). Esto se atribuye a que el CAH aporta carga microbiana (Ribas *et al.*, 2009). Los valores de BAHT obtenidos de B10, B20 y B50 se mantuvieron superiores a C a lo largo de todo el ensayo.

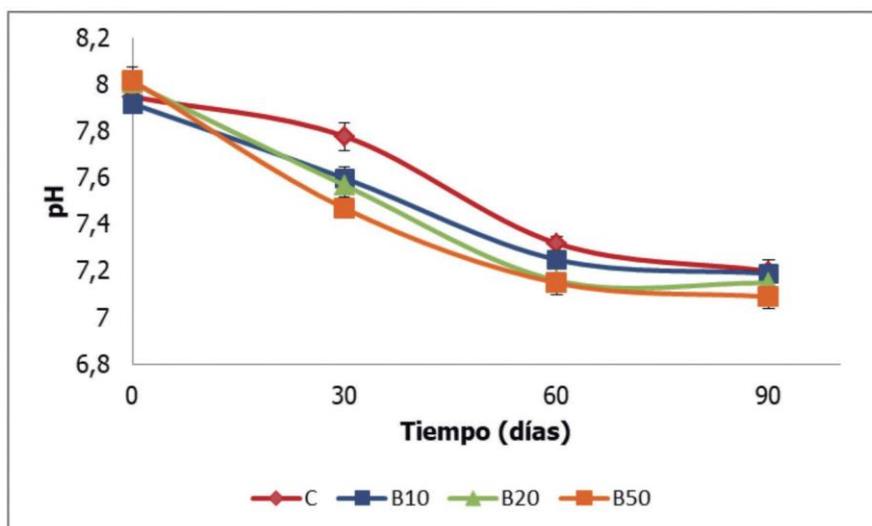


Fig. 2. Determinación de pH en los sistemas C (atenuación natural); B10, B20 y B50 (biorremediación con CAH al 10, 20 y 50 % p/p respectivamente) durante el ensayo de microcosmos

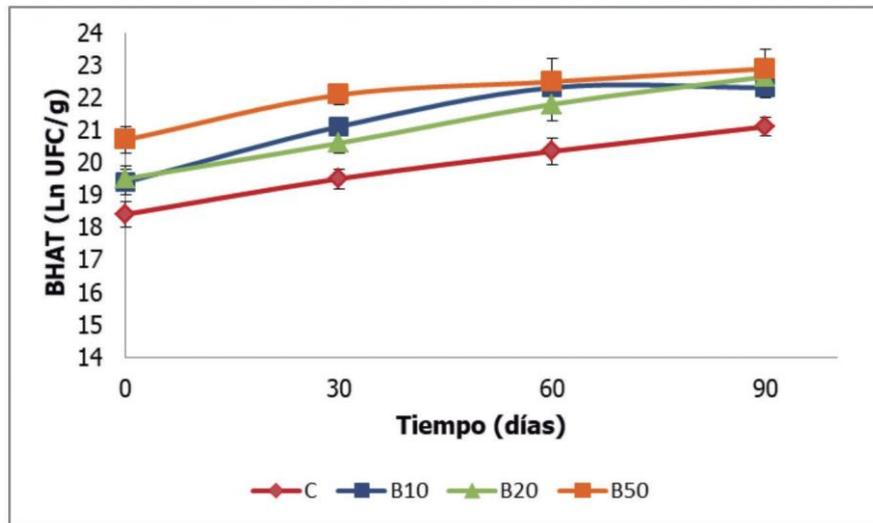


Fig. 3. Recuentos de bacterias heterótrofas aeróbicas (BHAT) en los sistemas C (atenuación natural); B10, B20 y B50 (biorremediación con CAH al 10, 20 y 50 % p/p respectivamente) durante el ensayo de microcosmos

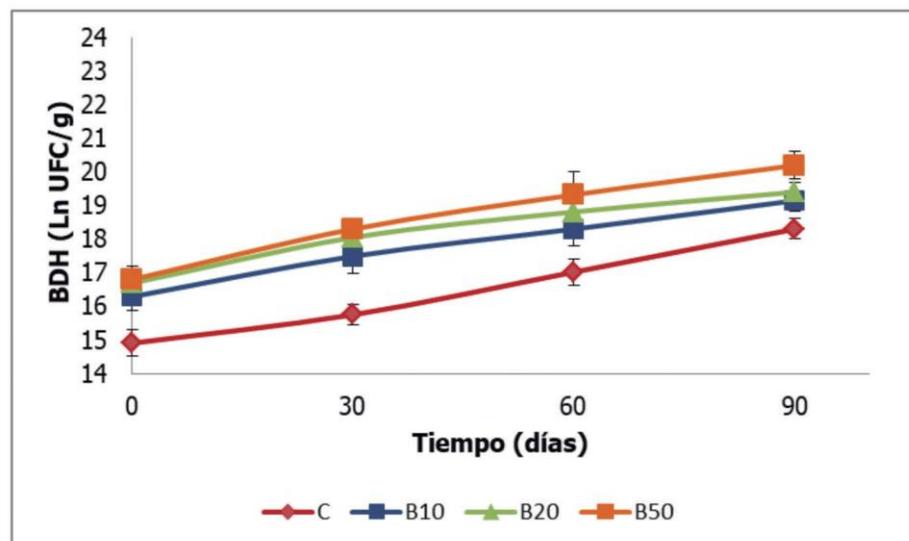


Fig. 4. Recuentos de bacterias degradadoras de hidrocarburos (BDH) en los sistemas C (atenuación natural); B10, B20 y B50 (biorremediación con CAH al 10, 20 y 50 % p/p respectivamente) durante el ensayo de microcosmos

Por otro lado, siendo que B50 fue el sistema con mayor contenido de CAH, tuvo los mayores recuentos de BHAT desde el inicio hasta los 30 días; luego fueron similares entre B10, B20 y B50 hasta el final del experimento.

Los recuentos de las BDH mostraron un comportamiento similar al de las BHAT (Figura 4). En el inicio del experimento los tratamientos B10, B20 y B50 mostraron valores de BDH ($1,26 \times 10^7$; $1,82 \times 10^7$ y $2,10 \times 10^7$ UFC/g) significativamente superiores a C ($3,08 \times 10^6$ UFC/g) ($p < 0,05$). Esto indicaría que una población de bacterias degradadoras de hidrocarburos se encuentra presente en el CAH (Zhou *et al.*, 2020).

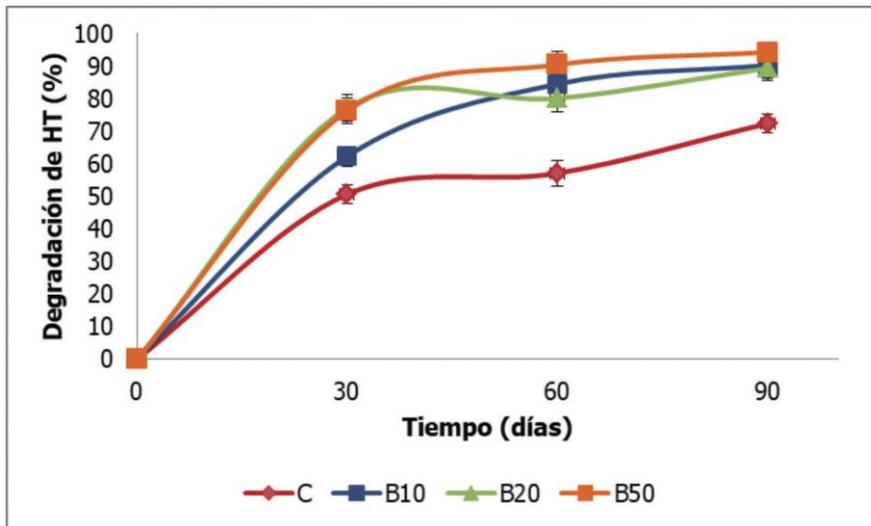


Fig. 5. Degradación de HT en los sistemas C (atenuación natural); B10, B20 y B50 (biorremediación con CAH al 10, 20 y 50 % p/p respectivamente) durante el ensayo de microcosmos

A lo largo del ensayo, los recuentos de las BDH aumentaron significativamente ($p < 0,05$) en todos los tratamientos. Al finalizar el ensayo (90 días) los valores de los sistemas B10, B20 y B50 ($2,12 \times 10^8$; $2,78 \times 10^8$ y $6,06 \times 10^8$ UFC/g) resultaron significativamente superiores a C ($9,50 \times 10^7$ UFC/g) ($p < 0,05$).

Las curvas de degradación de HT confeccionadas a partir de los resultados obtenidos de la técnica de cromatografía gaseosa se muestran en la Figura 5. Los datos se muestran en porcentaje de degradación, ya que al comienzo del ensayo los sistemas presentaron diferencias en la concentración de HT, debido a que en las mezclas con CAH ocurrió un efecto de dilución de los HT.

Se observó que los sistemas B10, B20 y B50 presentaron mayores porcentajes de degradación de HT con respecto a C ($p < 0,05$) durante todo el periodo del experimento. A los 30 días en B20 y B50 se obtuvo 76,3 y 77,1 % de degradación de HT, mientras que en B10 fue 62,3 % y en C fue 50,6 %. En cambio, a los 60 días, los tres sistemas B10, B20 y B50 mostraron un alto desempeño en la degradación de HT (88,0; 86,8 y 90,4 %) con respecto a C (59,5 %). De esta manera el aporte de CAH logró obtener un suelo con HT por debajo de 1000 mg/kg, acorde a la reglamentación Norma Holandesa, en un periodo de 60 días. Al final del experimento (90 días) los sistemas con CAH lograron una remoción de HT del 90 %, frente al 72,2 % que se obtuvo en la atenuación natural (Figura 6).

El alto grado de degradación de HT que se observó con el agregado de CAH en comparación con la atenuación natural se correlaciona con los recuentos de BDH. Es decir, que CAH pudo haber aportado una comunidad degradadora de hidrocarburos que contribuyó a potenciar la remoción del contaminante, y/o aportó nutrientes como nitrógeno, fósforo, potasio y oligoelementos, los cuales activaron el metabolismo microbiano y promovieron el crecimiento de las bacterias degradadoras de hidrocarburos autóctonas del suelo. Los compost también son ricos en enzimas, tales como la lacasa, peroxidasa y manganosa peroxidasa, producidas por los hongos. Estas enzimas participan en la biodegradación de la lignina y compuestos xenobióticos, compuestos de hidrocarburos (Mousavi *et al.*, 2019). Por lo tanto, el CAH aportó varios componentes que contribuyeron a remover eficientemente los HT, disminuyendo las concentraciones de HT desde 8.876 mg/kg hasta 351 mg/kg.

En conjunto los resultados de este trabajo indican que el uso de CAH fresco (sin acondicionamiento) favoreció la biodegradación de hidrocarburos en un suelo crónicamente contaminado aportando nutrientes y enzimas, es decir mediante la bioestimulación; y también

un posible aporte de microorganismos degradadores de hidrocarburos, es decir mediante la bioaumentación. Este último efecto requiere especial atención, ya que al tratarse de una tecnología amigable con el ambiente, es deseable que los microorganismos autóctonos no afecten la microflora autóctona del suelo donde se aplica. Por lo que debe estudiarse la evolución del tratamiento en cuanto a la riqueza y la diversidad microbiana. En tanto, estudios previos indican que los CAH frescos aportan población bacteriana autóctona aumentando considerablemente la población bacteriana del suelo, lo cual potencia la degradación de hidrocarburos, y luego de un periodo esta población disminuye (Chiu *et al.*, 2009; Mukherjee *et al.*, 2014). La razón por la que la población autóctona se extingue luego de un tiempo puede deberse a que exista competencia entre los microorganismos introducidos en el CAH y los microorganismos autóctonos. Otra posible razón puede atribuirse a que algunos microorganismos del CAH al ser expuestos a un suelo con bajo contenido de nutrientes en relación con el sustrato, no se adaptan al entorno del suelo y por consiguiente se extinguen. También un efecto tóxico del contaminante puede conducir a controlar la propagación de hongos provenientes de CAH (Zhou *et al.*, 2020).

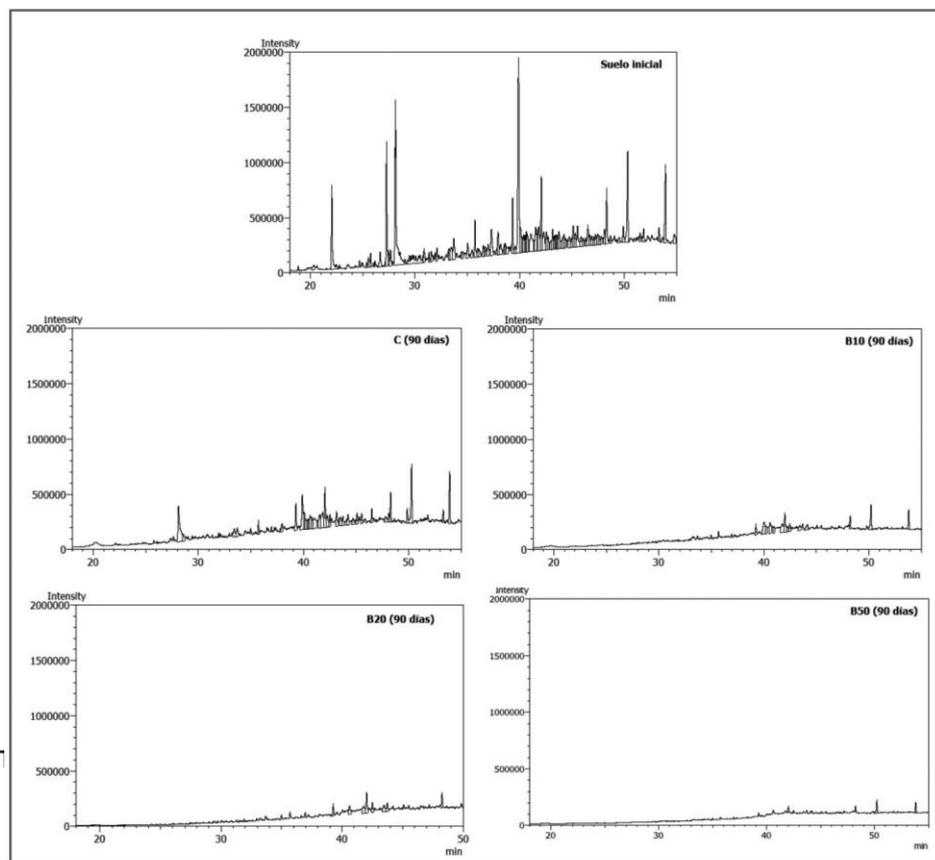


Fig. 6. Cromatogramas de los microcosmos: del suelo inicial, y de los tratamientos C (atenuación natural); B10, B20 y B50 (biorremediación con CAH al 10, 20 y 50 % p/p respectivamente) a los 90 días

Conclusiones

Este estudio demostró que el agregado de CAH sobre el suelo crónicamente contaminado con hidrocarburos produjo un incremento significativo de la degradación de hidrocarburos en comparación con la atenuación natural. La adición de CAH aumentó las BHAT y las BDH, correlacionándose positivamente con la eficacia de la degradación de HT. Asimismo, el CAH contribuyó a potenciar la biorremediación del suelo mediante el aporte de nutrientes y enzimas que estimularon la actividad metabólica de la microbiota biodegradadora del sistema.

Los resultados de los microcosmos posicionaron a los sistemas B10 y B20 como alternativas prometedoras para degradar hasta el 90% de HT, en 60 y 30 días, respectivamente, en el suelo en estudio. Esto conduce como perspectiva a continuar con la investigación para abordar varios aspectos del sistema, tales como la relación C: N: P, la evolución microbiana, la composición de la fracción de hidrocarburos remanentes al final del tratamiento y la toxicidad final de los suelos tratados.

Por lo tanto, el uso de CAH para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos resulta una potencial estrategia para lograr un bioproceso técnicamente factible para fines de remediación ambiental y para la gestión de residuos de la agroindustria.

Agradecimientos

Esta investigación se realizó en el marco de un convenio entre RHASA y la Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Delta, Campana, Buenos Aires, Argentina, y fue financiada por el subsidio IPUTNDE0007725 de la Universidad Tecnológica Nacional.

Referencias

- ABIOYE, P.O.; AZIZ, A.A. y AGAMUTHU, P., (2010) Enhanced biodegradation of used engine oil in soil amended with organic wastes. *Water Air Soil Pollut*, 209, 173–179.
- AHLAWAT, O.P.; GUPTA, P.; KUMAR, S.; SHARMA, D.K. y AHLAWAT, K., (2010) Bioremediation of fungicides by spent mushroom substrate and its associated microflora. *Indian J Microbiol*, 50(4), 390-395.
- AZUBUIKE, C.C.; CHIKERE, C.B. y OKPOKWASILI, G.C., (2016) Bioremediation techniques-classification based on site of application. Principles, advantages, limitations and prospects. *World J Microbiol Biotechnol* 32: 180.
- CONDE MOLINA, D.; LIPORACE, F y QUEVEDO, C., (2019) Development of bioremediation strategies based on the improvement of biomass production from isolated strains in hydrocarbon contaminated soils and their application in bioremediation technologies. *Brazilian J Develop*, 5 (7), 10708-27.
- CHIU, S.W.; GAO, T.; CHAN, S.S.C. y HO, K.M.C., (2009) Removal of spilled petroleum in industrial soils by spent compost of mushroom *Pleurotus pulmonarius*. *Chemosphere*, 75, 837E842.
- CHUNDAWAT, S.P.S.; BECKHAM, G.T.; HIMMEL, M.E. y DALE, B.E., (2011) Deconstruction of lignocellulosic biomass to fuels and chemicals. *Annu Rev Chem Biomol Eng*, 2, 121–145.
- DI GREGORIO, S.; BECARELLI, S.; SIRACUSA, G.; RUFFINI CASTIGLIONE, M.; PETRONI, G.; MASINI, G.; GENTINI, A.; DE LIMA E SILVA, M.R. y LORENZI, R., (2016) *Pleurotus ostreatus* spent mushroom substrate for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: the case study of a pilot dynamic biopile for the decontamination of a historically contaminated soil. *J Chem Technol Biotechnol*, 91(6), 1654-1664.
- DOUGLAS, S.I.; UGBOMA C.J. y ONWUKWE, O.J., (2020). Effects of Three Organic Amendments on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation from Crude Oil Polluted Artisanal Refining Site. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 9(12) 488-502.
- ERICKSON, B; NELSON, J.E. y WINTERS, P., (2012) Perspective on opportunities in industrial biotechnology in renewable chemicals. *Biotechnol J.*, 7(2), 176-185.
- GALLEGOS, A.M.; CARRERA, S.H.; PARRA R.; KESHAVARZ, T. y IQBAL H.M.N., (2016) Bacterial cellulose: A sustainable source to develop value-added products - A review. *BioResources* 11, 2, 5641-5655.
- GEE, G.W. y BAUDER, J.W., (1986) Particle-size analysis, in *Methods of Soil Analysis*, A. Klute, ed., Physical and Mineralogical Methods American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, Madison, 383-411.
- HAMOUDI-BELARBI, L.; HAMOUDI, S.; BELKACEMI, K.; NOURI, L.; BENDIFALLAH, L. y KHODJA, M., (2018). Bioremediation of Polluted Soil Sites with Crude Oil Hydrocarbons Using Carrot Peel Waste. *Environments*, 5(11), 124.
- LABORDE, M.D.; URSINO, S. y ADRINI, H.L., (2013) Dinámicas territoriales en el frente portuario de la microregión de Zárate y Campana en las últimas dos décadas. *Geograficando* 9, 9.
- LEONG, Y.K., MA T.W., CHANG, J.S. y YANG, F.C., (2022) Recent advances and future directions on the valorization of spent mushroom substrate (SMS): A review. *Bioresour Technol*, 344(Pt A), 126157.
- LIM, M.W.; LAU, E.V. y POH, P.E., (2016) A comprehensive guide of remediation technologies for oil contaminated soil - Present works and future directions. *Mar Pollut Bull*, 109(1), 14–45.
- MARÍN BENITO, J.; SÁNCHEZ MARTÍN, M. y RODRÍGUEZ CRUZ, M., (2016). Impact of spent mushroom substrates on the fate of pesticides in soil, and their use for preventing and/or controlling soil and water contamination: A Review. *Toxics*, 4(3), 17.
- MOUSAVI, S.M.; HASHEMI, S.A.; IMAN MOEZZI, S.M.; RAVAN, N., GHOLAMI, A., LAI, C.W.; CHIANG, W.H.; OMIDIFA, N.; YOUSEFI, K. y BEHBUDI, G., (2021) Recent advances in enzymes for the bioremediation of pollutants. *Biochem Res Int*. 22, 5599204.
- RIBAS, L.C.C.; DE MENDONCA, M.M.; CAMELINI, C.M. y SOARES, C.H.L., (2009)

Use of spent mushroom substrates from *Agaricus subrufescens* (syn. *A. blazei*, *A. brasiliensis*) and *Lentinula edodes* productions in the enrichment of a soil-based potting media for lettuce (*Lactuca sativa*) cultivation: Growth promotion and soil bioremediation. *Bioresource Technol*, 100(20), 4750–4757.

MOLINA BARAHONA, L.; RODRÍGUEZ VÁZQUEZ, R.; HERNANDEZ VELASCO, M.; VEGA JARQUIN, C.; ZAPATA PEREZ, O.; MENDOZA CANTÚ, A. y ALBORES, A., (2004) Diesel removal from contaminated soils by biostimulation and supplementation with crop residues. *Appl. Soil Ecol.* 27, 165–175.

MUKHERJEE, S.; JUOTTONEN, H.; SIIVONEN, P.; QUESADA, C.L.; TUOMI, P.; PULKKI-NEN, P. y YRJALA, K., (2014) Spatial patterns of microbial diversity and activity in an aged creosote-contaminated site. *ISME J.* 8, 2131E2142.

OLDARE, M.; ARTHURSON, V.; PELL, M.; SVENSSON, K.; NEHRENHEIM, E.; OSSAI, I.C.; AHMED, A.; HASSAN, A. y HAMID, F.S. (2020). Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. *Environ Technol Innov*, 17, 100526.

OKERENTUGBA, P.; ORJI, F.; IBIENE, A. y ELEMOMO G., (2015) Spent mushroom compost for bioremediation of petroleum hydrocarbon polluted soil: A review. *J Environ Sci Toxicol*, 4(1):001–7.

SINGH, S.; KANG, S.H.; MULCHANDANI, A. y CHEN, W., (2008) Bioremediation: Environmental clean-up through pathway engineering. *Curr Opin Biotechnol*, 19, 437–444.

SEMPLE, K.T.; REID B.J. y FERMOR, T.R., (2001) Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ Pollut*, 112(2), 269-83.

WALKLEY, A. y BLACK, I.A., (1934) An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci*, 63, 251-263.

WANG, C.; YU, D.; SHI, W.; JIAO, K.; WU, B. y XU, H., (2016) Application of spent mushroom (*Lentinula edodes*) substrate and acclimated sewage sludge on the bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon polluted soil. *RSC Advances*, 6(43), 37274–37285.

ZHOU, J.; GE, W.; ZHANG, X., WU, J.; CHEN, Q.; MA, D. y CHAI, C., (2020) Effects of spent mushroom substrate on the dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soil. *Chemosphere*, 127462.

