

AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS NATIVOS DE SUELOS CONTAMINADO CON HIDROCARBUROS Y METALES PESADOS CON POTENCIAL PARA FITORREMEDIACIÓN ASISTIDA POR BIOAUMENTO

ISOLATION AND SELECTION OF NATIVE MICROORGANISMS FROM SOILS CONTAMINATED WITH HYDROCARBONS AND HEAVY METALS WITH POTENTIAL FOR BIOAUGMENTATION-ASSISTED PHYTOREMEDIATION

Magaly I. Aulestia Herrera¹, Gissela Ponce Q.², Genny Herrera³

{miaulestia@espe.edu.ec¹, geponce1@espe.edu.ec², genny.herrera@hotmail.com³}

Fecha de recepción: 30/09/2025 / Fecha de aceptación: 06/09/2025 / Fecha de publicación: 07/10/2025

RESUMEN: La contaminación del suelo por metales pesados e hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) representa una seria amenaza para los ecosistemas y la salud humana. La fitorremediación surge como una alternativa sostenible para la rehabilitación de estos suelos, pero su eficacia en ambientes con co-contaminación severa a menudo se ve limitada por el estrés tóxico que suprime el desarrollo vegetal. Si bien el bioaumentación con microorganismos rizosféricos puede potenciar este proceso, los inoculantes comerciales frecuentemente fallan al no adaptarse a las condiciones específicas del suelo. Por ello, este estudio se orienta hacia la biorremediación con microorganismos nativos, partiendo de la hipótesis de que es posible aislar cepas autóctonas adaptadas a la co-contaminación, con capacidad para desarrollarse en la rizósfera y estimular el crecimiento vegetal. Para verificar esta hipótesis, se aislaron microorganismos nativos de un suelo contaminado con HAPs y metales, recolectando 15 muestras aleatorias en tres puntos (P, Q, R). De un total de 129 cepas iniciales, se seleccionaron 48 con morfologías distintivas (bacterias, levaduras y hongos). Estas fueron algunas pruebas de resistencia frente a una mezcla de HAPs (fluoranteno, benzo(β)fluoranteno, antraceno, benzo(α)antraceno y benzo(α)pireno) en tres concentraciones, y a diferentes niveles de pH (2,5, 4,0 y 7,5). Los resultados demostraron una superior tolerancia en las cepas fúngicas, identificándose ocho cepas capaces de crecer en todas las condiciones. Finalmente, se seleccionaron 23 cepas con base en su capacidad de adaptación a la rizósfera y potencial de degradación. Este trabajo sienta las bases para el desarrollo de un consorcio microbiano nativo

¹Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Sangolquí – Ecuador, <https://orcid.org/0000-0002-3376-1733>; +593939139802.

²Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Sangolquí – Ecuador; +593985970451.

³Departamento de medioambiente, JM Laboratorios S.C.C Quito – Ecuador; +593993333327.

aplicable en estrategias de fitorremediación asistida por bioaumentación para suelos con co-contaminación compleja.

Palabras clave: *Microorganismos rizosféricos, bioprospección, bioaumentación, metales pesados, HAPs*

ABSTRACT: Soil contamination by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (HAPs) represents a serious threat to ecosystems and human health. Phytoremediation is emerging as a sustainable alternative for the rehabilitation of these soils, but its effectiveness in severely co-contaminated environments is often limited by toxic stress that suppresses plant growth. While bioaugmentation with rhizosphere microorganisms can enhance this process, commercial inoculants frequently fail due to their lack of adaptation to specific soil conditions. Therefore, this study focuses on bioremediation with native microorganisms, based on the hypothesis that it is possible to isolate native strains adapted to co-contamination, capable of developing in the rhizosphere and stimulating plant growth. To test this hypothesis, native microorganisms were isolated from soil contaminated with HAPs and metals, collecting 15 random samples at three locations (P, Q, R). From a total of 129 initial strains, 48 with distinctive morphologies (bacteria, yeasts, and fungi) were selected. These were resistance tests against a mixture of HAPs (fluoranthene, benzo(β)fluoranthene, anthracene, benzo(α)anthracene, and benzo(α)pyrene) at three concentrations and different pH levels (2.5, 4.0, and 7.5). The results demonstrated superior tolerance among the fungal strains, with eight strains capable of growing under all conditions being identified. Finally, 23 strains were selected based on their adaptability to the rhizosphere and their degradation potential. This work lays the foundation for the development of a native microbial consortium applicable in bioaugmentation-assisted phytoremediation strategies for soils with complex co-contamination.

Keywords: *Rhizospheric microorganisms, bioprospecting, bioaugmentation, heavy metals, HAPs*

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas el rápido desarrollo del sector industrial a nivel mundial ha provocado grandes perjuicios en el medio ambiente, generando la contaminación de una gran variedad de ecosistemas. En la actualidad muchos sitios ubicados en zonas urbanas deben ser rehabilitados para evitar la migración de contaminantes y así reducir los daños que estos provocan en la salud de personas, animales y plantas. Los contaminantes que se encuentran típicamente en estos lugares son los metales pesados y los productos derivados del petróleo (1), (2).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), son considerados contaminantes prioritarios debido a su potencial toxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad. Debido a su naturaleza hidrofóbica, muchos HAPs se unen a partículas y sedimentos del suelo disminuyendo su biodisponibilidad y provocando su acumulación a través de la cadena trófica (3), (4).

La acumulación y las características de ubicuidad, persistencia y potenciales efectos nocivos para el medio ambiente y la salud humana que producen los metales, los ha convertido en un problema de gran preocupación en los países industrializados (5), (6). Los metales pesados al igual que los HPAs, producen efectos negativos en la salud de los organismos superiores; pueden provocar la disminución del crecimiento en plantas, daños en la cobertura vegetal del suelo provocando impactos negativos en su microflora (7), (8). El suelo al ser un medio estático es vulnerable a que los contaminantes permanezcan en él durante mucho tiempo. Esta permanencia a largo plazo es especialmente grave ya que estos contaminantes no pueden ser fácilmente degradados. La consecuencia directa de esta contaminación del suelo es una ausencia inicial de vegetación o la pérdida de su productividad, la disminución de la biodiversidad e indirectamente la contaminación del aire, aguas superficiales y subterráneas (9).

La acumulación de metales pesados y HAPs, agravada por sus características de persistencia, ubicuidad y sus efectos nocivos para los ecosistemas y la salud humana, representa un desafío ambiental a escala global (5), (6). Esta problemática no es exclusiva de los países industrializados; en América Latina, el acelerado desarrollo extractivo e industrial ha generado numerosos pasivos ambientales, donde la contaminación de suelos por estas sustancias es una constante (7), (8), (9). En Ecuador, esta realidad es particularmente evidente en áreas impactadas por actividades petroleras y mineras, que han alterado la integridad de extensas áreas de suelo (10), (11), (12).

Estos contaminantes ejercen efectos negativos directos sobre los organismos superiores y la vegetación, inhibiendo el crecimiento de las plantas y degradando la cobertura vegetal, lo que a su vez genera impactos cascada en la microflora edáfica (13), (14). Dada la naturaleza estática del suelo, los contaminantes pueden persistir en él durante décadas, especialmente porque los metales no pueden ser degradados y muchos HPA son altamente recalcitrantes. En ecosistemas sensibles como los tropicales, esta permanencia a largo plazo tiene consecuencias drásticas: la pérdida de productividad del suelo, la disminución crítica de la biodiversidad y la contaminación secundaria de fuentes de agua y aire, comprometiendo servicios ecosistémicos vitales y la seguridad de las comunidades locales (13).

Es evidente que la contaminación del suelo con metales y HAPs constituye un grave problema con consecuencias negativas tanto en la salud como a nivel económico. Es de esperar que la presencia simultánea de estos dos tipos de contaminantes en un mismo emplazamiento represente retos técnicos y económicos para el desarrollo de las estrategias de descontaminación, es por eso que, el proyecto planteado por nuestro grupo de investigación pretende juntar las tecnologías de bioaumentación y fitorremediación para descontaminar un emplazamiento, cuyo suelo se encuentra contaminado con metales HAPs. Se ha elegido juntar estas dos tecnologías de descontaminación puesto que se ha demostrado que tanto plantas como bacterias son capaces de disminuir las concentraciones de metales e hidrocarburos respectivamente.

Las pruebas realizadas en esta investigación, constituyen un pilar importante para el posterior desarrollo del proyecto antes descrito ya que, a través de los resultados obtenidos, se podrá: (i) seleccionar los microorganismos más idóneos para el posterior estudio de su capacidad de eliminación de los contaminantes, primeramente a nivel de laboratorio y después en un

emplazamiento real llevando a cabo el proceso de bioaumentación y fitorremediación; (ii) seleccionar la vegetación más adecuada para los procesos de fitorremediación tomando en cuenta las características ambientales del emplazamiento en estudio así como los tipos de contaminantes que se encuentran en el suelo y (iii) estudiar la mejora de los procesos de fitorremediación cuando se establece una relación simbiótica entre las plantas y microorganismos seleccionados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de Investigación y Localización del Estudio: el presente estudio se enmarcó en una investigación de tipo experimental y aplicada, sustentada en análisis de laboratorio. El muestreo se realizó en un área identificada con suelos impactados por co-contaminación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y metales pesados, ubicada en las cercanías de la estación de trenes de Chimbacalle, ubicada en la ciudad de Quito - Ecuador.

El diseño experimental comprendió tres fases principales:

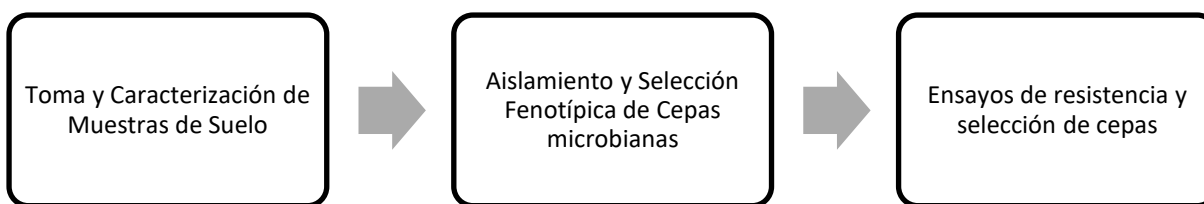


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de aislamiento y selección de cepas.

1. Toma y caracterización de muestras de suelo: Se realizó un muestreo previo de la zona afectada por contaminación de hidrocarburos y metales pesados con el fin de conocer la distribución espacial (homogénea o heterogénea) de los contaminantes y por otro lado obtener muestras para el aislamiento de microorganismos aclimatados al crecimiento en presencia de metales pesados y de hidrocarburos en la zona de estudio.

El diseño y realización del muestreo se llevó a cabo teniendo en cuenta los protocolos descritos por Boulding *et al* (14) para lo cual se determinaron aleatoriamente tres puntos de muestreo (P, Q y R) divididos en cuadrículas de cuatro columnas (A, B, C y D) por 5 filas en los puntos de muestreo P y Q y en tres columnas (A, B y C) por 5 filas en el punto de muestreo R. En cada punto se tomaron muestras aleatorias de las cuales 100 g fueron analizados en los laboratorios de química analítica de JM Laboratorios S.C.C, para la determinación de hidrocarburos y pesticidas. El resto de muestra se sometieron a secado previo a su caracterización fisicoquímica que permitió determinar los valores de pH, la salinidad del suelo y las concentraciones de contaminantes en cada punto de muestreo.

La Tabla 1 especifica los parámetros medidos en cada una de las muestras, habiéndose estudiado: i) TPHs para todas las muestras de suelo seleccionadas (en la tabla TPHs); ii) hidrocarburos

volátiles, separación en cadenas y PHAs (en la tabla HC) para las muestras A1 y A5 de los puntos P y Q y iii) herbicidas (en la tabla H) para las muestras del punto R más cercanas a la vía (A1 y A5). Esta selección se realizó atendiendo a criterios de tratamiento: en los puntos de muestreo P y Q se focalizará en la eliminación de hidrocarburos (además de metales) mientras que en el punto R el tratamiento estará focalizado a la fitorremediación de metales con plantas resistentes a los herbicidas que puedan aparecer en el medio.

Tabla 1. Parámetros analizados en las diferentes muestras de suelo.

Muestra			Parámetros analizados	
P	A	1	TPHs	HC
P	A	5	TPHs	HC
P	B	1	TPHs	
P	B	5	TPHs	
P	D	1	TPHs	
P	D	5	TPHs	
Q	A	1	TPHs	HC
Q	A	5	TPHs	HC
Q	B	1	TPHs	
Q	B	5	TPHs	
Q	D	1	TPHs	
Q	D	5	TPHs	
R	A	1	TPHs	H
R	A	5	TPHs	H
R	C	1	TPHs	
R	C	5	TPHs	

2. Aislamiento y Selección Fenotípica de Cepas microbianas: para el aislamiento de microorganismos, se tomaron como referencia los protocolos descritos por Aulestia et al (15) con determinadas modificaciones para adaptarlo a los requerimientos del proyecto. En primer lugar, se realizó un enriquecimiento en tampón fosfato salino (PBS) y HAPs como única fuente de carbono y a continuación se sembró en medio mínimo (MM) empleando el método de agotamiento en superficie, 100 µl de muestras diluidas de cada cultivo enriquecido utilizando HAPs como única fuente de carbono.

El aislamiento inicial de cepas se basó en un criterio de selección fenotípico. A partir de las placas originales, se seleccionaron aquellas que presentaron colonias morfológicamente distinguibles y bien separadas, asegurando que cada una represente un posible morfotipo diferente. Cada colonia seleccionada se purificó mediante siembra por extensión en placa en tres medios de cultivo sólidos diferentes para favorecer el crecimiento de los distintos grupos microbianos y verificar su pureza:

- Agar Triptona de Soja (TSA) suplementado con cicloheximida (1 mL/L) para inhibir el crecimiento fúngico y aislar selectivamente bacterias. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

- Agar Extracto de Malta (MEA) para favorecer el desarrollo de hongos. Las placas se incubaron a 30 °C durante 48 horas.
- Agar Sabouraud (SAB) con cloranfenicol para favorecer el desarrollo de levaduras e inhibir bacterias. Las placas se incubaron a 30 °C durante 72 horas.

Todos los aislamientos se realizaron por duplicado para garantizar la pureza y consistencia de cada cepa obtenida.

3. Ensayos de resistencia y selección de cepas: para evaluar la tolerancia de los microorganismos aislados a las condiciones de estrés del suelo de estudio, se realizaron ensayos de resistencia frente a un gradiente de pH (2,5; 4,0 y 7,5) y a diferentes concentraciones de una mezcla de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). El diseño de las concentraciones de HAPs (Tabla 1) se basó en la concentración media encontrada in situ (C1), incluyendo también una concentración diez veces superior (C1x10) y otra diez veces inferior (C1/10), con el fin de evaluar un amplio rango de tolerancia.

El ensayo se llevó a cabo en placas de 24 pocillos. En cada pocillo se dispuso una mezcla de 0,9 ml de medio de cultivo con el contaminante como única fuente de carbono a la concentración deseada y 0,1 ml de una suspensión del inóculo ajustada a 10^5 UFC/mL. Las placas se incubaron a temperatura ambiente con agitación constante (120 rpm) durante 7 días. Para garantizar la validez de los ensayos, se incluyeron controles positivos (medio de cultivo sin contaminantes inoculado con cada cepa) y controles negativos (medio con contaminantes sin inóculo) en cada placa. La evaluación del crecimiento se realizó agregando 1 mL de resazurina (4 ppm) a cada pocillo tras el periodo de incubación. La funcionalidad metabólica se confirma con el cambio de color de azul (resazurina) a rosa o incoloro (resorufina).

Todos los ensayos se realizaron por duplicado para verificar la consistencia de los resultados y de forma paralela, se ejecutaron los mismos ensayos utilizando una biofórmula comercial para biorremediación como referencia comparativa.

La variable de respuesta en estos ensayos fue de naturaleza cualitativa binaria (crecimiento/sin crecimiento), determinada mediante el método colorimétrico con resazurina. Un resultado se consideró positivo únicamente al observar el cambio de color característico en ambas réplicas. Dada la naturaleza categórica y no paramétrica de estos datos, el análisis se basó en estadística descriptiva ya que en nuestro bioensayo de selección inicial el objetivo es clasificar a los aislados en función de su capacidad de supervivencia bajo estrés, y no modelar variaciones continuas.

Tabla 2. Hidrocarburos ensayados.

HAPs	Abreviatura	mg/kg (ppm)		
		C1	C1*10	C1/10
Antraceno	A	0,14	1,4	0,01
Fluorantreno	F	0,14	1,4	0,01
Benzo(α)antraceno	B(α)A	0,2	2	0,02
Benzo(β)fluorantreno	B(β)F	0,27	2,7	0,03
Benzo(α)pireno	B(α)P	0,12	1,2	0,01

Para las pruebas de resistencia a pH se prepararon medios de cultivo compuestos por BHB suplementado con 10% de TSB para bacterias y 10% de MEB para levaduras y hongos a pHs de 2.5, 4 y 7.5. Las placas de pocillos fueron incubadas a temperatura ambiente y en agitación por 24 horas para bacterias y para hongos y levaduras por 48 horas.

RESULTADOS

Caracterización físico-química del suelo: los contaminantes presentes en las muestras de suelo fueron: (i) HAPs como antraceno, fluorantreno, benzo(α)antraceno, benzo(β)fluorantreno y benzo(α)pireno, (ii) metales como bario (Ba), cobre (Cu), manganeso (Mn), zinc (Zn), cromo (Cr), arsénico (As), plomo (Pb) y (iii) herbicidas como terbutilazina (5,17 µg/kg). Además, se determinó que el suelo presenta carácter salino y es básico teniendo un valor medio de pH igual a 8.

Los análisis fisicoquímicos de las muestras de suelo recogidas han permitido caracterizar el medio en el que se proyecta la restauración, identificando sus propiedades intrínsecas y la problemática de contaminación asociada. El suelo se caracteriza por presentar salinidad, un pH básico y un bajo contenido general de materia orgánica, el cual es superior en las muestras asociadas a cobertura vegetal (punto Q).

Los resultados revelan la presencia significativa de hidrocarburos, tanto alifáticos como aromáticos, en el rango de C10 a C35, cuya concentración tiende a incrementarse con el número de átomos de carbono. Asimismo, se detectó una concentración considerable de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y del herbicida terbutilazina. La evaluación de la contaminación por metales pesados mostró concentraciones elevadas de cobre (Cu), plomo (Pb), zinc (Zn), vanadio (V), bario (Ba) y manganeso (Mn). Cabe destacar que en algunas muestras los niveles de arsénico (As) y antimonio (Sb) superan los límites establecidos para suelos de uso urbano. Además, en las muestras procedentes del punto P, se identificó la presencia de cromo (Cr), un metal de elevada toxicidad que requiere especial consideración. El análisis confirma que el punto P constituye el foco de mayor contaminación por hidrocarburos aromáticos y alifáticos de todo el terreno.

La información obtenida constituye una base fundamental para seleccionar los organismos más adecuados para implementar las estrategias de biorremediación y fitorremediación en el sitio.

Aislamiento de microorganismo de las muestras de suelo: de las 15 muestras de suelo, se logró aislar un total de 48 cepas resistentes a HPAs de las cuales 10 corresponden a bacterias, 19 a levaduras y 19 a hongos filamentosos (Figura 2).

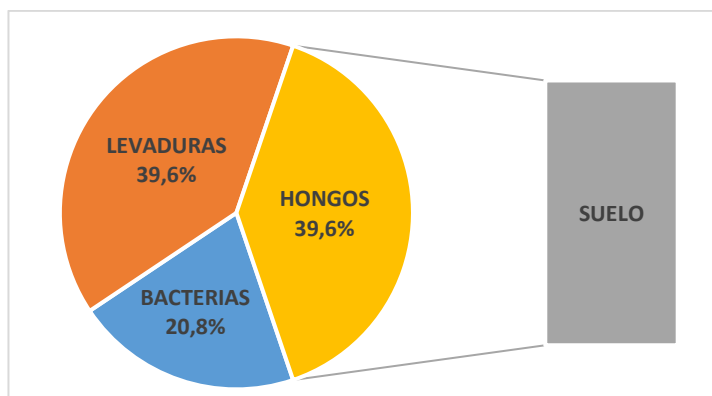


Figura 2. Biodiversidad microbiana del suelo en estudio.

Por otro lado, se pudo constatar que el punto de muestreo más megadiverso fue el punto R ya que de 3 muestras recolectadas en esta zona se aislaron 18 cepas, lo que representa el 37% del total. Aunque el punto Q aportó un porcentaje ligeramente mayor de cepas (40%), esto se explica porque de ese sitio se tomó el doble de muestras (6) en comparación con el punto R. El punto P fue el menos diverso, probablemente debido a que es el punto con mayor contaminación de todo el terreno evaluado (Figura 3).

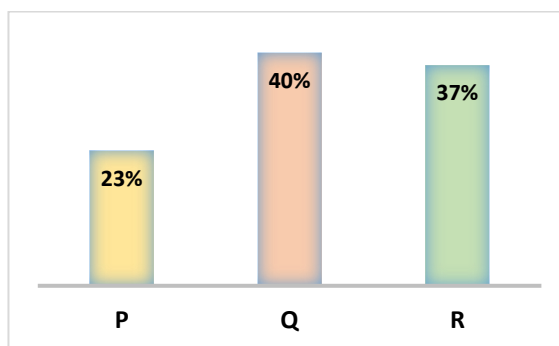


Figura 3. Diversidad de cepas en cada punto de muestreo.

La evaluación de resistencia permitió seleccionar las cepas más tolerantes mediante un criterio de exclusión basado en la capacidad de crecimiento en al menos el 50% de los ensayos. Tras esta selección, el conjunto de candidatos se redujo de 48 a 23 cepas, distribuidas en 5 bacterias, 7 levaduras y 11 hongos filamentosos, las cuales procederán a las siguientes fases del proyecto de bioaumentación.

Los resultados obtenidos en las pruebas de resistencia llevadas a cabo utilizando el consorcio de microorganismos obtenidos comercialmente, no arrojaron los resultados esperados ya que la biofórmula comercial no fue capaz de crecer en ninguno de los hidrocarburos testados y en

cuanto a las pruebas de pH, éstas no fueron consistentes ya que el consorcio se desarrolló a valores de 2,5 y 7,5 pero no al valor intermedio de 4.

DISCUSIÓN

La caracterización fisicoquímica inicial del suelo resultó fundamental para definir el escenario de co-contaminación por hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) y metales pesados, estableciendo las condiciones base para la selección de microorganismos y plantas tolerantes. La estrategia de muestreo en puntos con gradientes de contaminación (P, Q y R) permitió capturar una biodiversidad microbiana representativa. Si bien el punto R, más alejado de la fuente principal, presentó una mayor riqueza de especies, la tolerancia a los contaminantes fue excepcionalmente homogénea en todos los puntos muestreados. Este hallazgo sugiere una adaptación generalizada y un proceso de selección de la microbiota nativa hacia fenotipos resilientes, inducida por la presión de contaminación crónica, un fenómeno observado en ecosistemas impactados de manera similar (16), (17).

Del total de cepas aisladas, se observará una clara predominancia de hongos filamentosos y levaduras sobre las bacterias. La superior tolerancia de los hongos a los HPA y a las variaciones de pH observadas en nuestros ensayos concuerda con la literatura reciente. Los hongos poseen sistemas enzimáticos extracelulares versátiles, como lacasas y peroxidasas, y una capacidad única de exploración del sustrato mediante el crecimiento micelial, lo que les confiere una ventaja competitiva en la división de contaminantes orgánicos recalcitrantes en suelos complejos (18), (19). Esta robustez metabólica y estructural los posiciona como actores clave en estrategias de biorremediación.

A pesar de la predominancia fúngica, es crucial destacar el potencial de las bacterias y levaduras aisladas. El paradigma actual en biorremediación se inclina hacia el uso de consorcios microbianos sinérgicos antes que al de cepas únicas. La eficacia de estos consorcios reside en las interacciones metabólicas donde los subproductos de un organismo sirven como sustrato para otro, mejorando la eficiencia degradativa global y la resiliencia comunitaria frente al estrés (20), (21). Por lo tanto, las 23 cepas seleccionadas, que abarcan los tres grupos microbianos, representan un banco genético invaluable para el diseño de un consorcio nativo altamente adaptado, destinado a la bioaumentación.

La decisión de evaluar un rango de concentraciones de HPA y de pH, en lugar de replicar únicamente las condiciones iniciales del suelo, fue estratégica. Este enfoque permite seleccionar no solo microorganismos adaptados, sino también robustos, capaces de mantener su actividad en un ambiente dinámico y heterogéneo como es el suelo. Bajo estas condiciones fluctuantes es un principio recomendado para asegurar el éxito de las intervenciones de biorremediación a escala de campo (22). El uso de los HPA como única fuente de carbono y energía en los medios de enriquecimiento constituyó una poderosa herramienta de selección, asegurando que las cepas recuperadas no solo fueran tolerantes, sino que también tuvieran el potencial metabólico para utilizar estos contaminantes como sustrato (23), (24).

El fracaso del consorcio comercial utilizado como control subraya un principio crítico pues, la eficacia de los inoculantes microbianos es altamente dependiente del medio. Los microorganismos nativos, co-adaptados al estrés específico y a la matriz del suelo, suelen superar a los cultivos exógenos no adaptados. Esta superioridad de los consorcios nativos ha sido documentada recientemente en estudios de bioaumentación, donde su capacidad de establecimiento y eficacia es significativamente mayor (25), (26).

CONCLUSIONES

Se demostró que el suelo, a pesar de su alto nivel de contaminación, alberga una notable biodiversidad de microorganismos nativos adaptados a estas condiciones adversas. La tolerancia a los hidrocarburos y metales pesados fue una característica generalizada, independientemente de la proximidad a la fuente de contaminación, lo que sugiere una adaptación bien establecida de la microbiota nativa al estrés por contaminación.

De la diversidad inicial, se seleccionan 23 cepas por su capacidad de desarrollarse en condiciones que simulan la rizósfera y su potencial para degradar hidrocarburos. Entre estos, los hongos mostraron una tolerancia significativamente mayor que las bacterias y levaduras, posicionándose como componentes clave para la formación de consorcios microbianos efectivos.

Las cepas seleccionadas representan candidatos ideales para futuros ensayos de bioaumentación, ya que su adaptación nativa y su resiliencia demostrada las hacen idóneas para establecer sinergias con plantas fitorremediadoras en estrategias de rehabilitación de suelos con co-contaminación compleja.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roy S, Labelle S, Mehta P, Mihoc A, Fortin N, Masson C, et al. Phytoremediation of heavy metal and PAH-contaminated brownfield sites. *Plant Soil*. 2005;272(1):277-90.
2. Liu YR, Van der Heijden MGA, Riedo J, Sanz-Lazaro C, Eldridge DJ, Bastida F, et al. Soil contamination in nearby natural areas mirrors that in urban greenspaces worldwide. *Nat Commun*. 2023;14(1):1706.
3. Boonchan S, Britz ML, Stanley GA. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66(3):1007-19.
4. Marvin CH, Tomy GT, Thomas PJ, Holloway AC, Sandau CD, Idowu I, et al. Considerations for prioritization of polycyclic aromatic compounds as environmental contaminants. *Environ Sci Technol*. 2020;54(23):14787-9.
5. Bidar G, Garçon G, Pruvot C, Dewaele D, Cazier F, Douay F, et al. Behavior of *Trifolium repens* and *Lolium perenne* growing in a heavy metal contaminated field: plant metal concentration and phytotoxicity. *Environ Pollut*. 2007;147(3):546-53.
6. Zhang Q, Wang C. Natural and human factors affect the distribution of soil heavy metal pollution: a review. *Water Air Soil Pollut*. 2020;231(7):350.

7. Wilcke W, Lilienfein J, do Carmo Lima S, Zech W. Contamination of highly weathered urban soils in Uberlândia, Brazil. *J Plant Nutr Soil Sci.* 1999;162(5):539-48.
8. Martins CC, Bicego MC, Mahiques MM, Figueira RC, Tessler MG, Montone RC. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a large South American industrial coastal area (Santos Estuary, Southeastern Brazil): sources and depositional history. *Mar Pollut Bull.* 2011;63(5-12):452-8.
9. Khillare PS, Hasan A, Sarkar S. Accumulation and risks of polycyclic aromatic hydrocarbons and trace metals in tropical urban soils. *Environ Monit Assess.* 2014;186(5):2907-23.
10. Carriel SDRL. Bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils: review and perspective for Ecuador in the Latin American context. *eVitroKhem Rev Innov Ing Bioméd Quím.* 2024;(3):145.
11. Carrión-Paladines V, Calva J, Ochoa-Pérez T, Ruiz L, López-Rodríguez F. Heavy metal contamination in Arenillas Ecological Reserve soils: correlation and conservation impact. *Land Degrad Dev.* 2025;36(10):3454-71.
12. Barraza F. Transfer of trace metals between air, soil and cacao beans in areas impacted by oil activities in Ecuador. In: *Proceedings of the 18th International Conference on Heavy Metals in the Environment*; 2016 Dec; Ghent, Belgium.
13. McGrath SP, Zhao FJ, Lombi E. Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils. *Plant Soil.* 2001;232(1-2):207-14.
14. Yan K, Wang H, Lan Z, Zhou J, Fu H, Wu L, et al. Heavy metal pollution in the soil of contaminated sites in China: Research status and pollution assessment over the past two decades. *J Clean Prod.* 2022;373:133780.
15. Crespo CG, Olano JM, Hernández A, García-Plazaola JI, Sarasua OB, Soto JMB. Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación. *Ecosistemas.* 2007;16(2):5.
16. Boulding JR. *Description and sampling of contaminated soils: a field guide.* 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 1994. 176 p.
17. Aulestia M, Flores A, Mangas EL, Pérez-Pulido AJ, Santero E, Camacho EM. Isolation and genomic characterization of the ibuprofen-degrading bacterium *Sphingomonas* strain MPO218. *Environ Microbiol.* 2021;23(1):267-80.
18. Liu P, Zhang Y, Tang Q, Shi S. Bioremediation of metal-contaminated soils by microbially-induced carbonate precipitation and its effects on ecotoxicity and long-term stability. *Biochem Eng J.* 2021;166:107856.
19. López AMQ, dos Santos Silva AL. Biostimulation and Bioaugmentation: Case Studies. In: Kumar V, Thakur IS, editors. *Genomics Approach to Bioremediation: Principles, Tools, and Emerging Technologies.* Wiley; 2023. p. 53-68.
20. Bhatt P, Verma A, Gangola S, Bhandari G, Chen S. Microbial glycoconjugates in organic pollutant bioremediation: recent advances and applications. *Microb Cell Fact.* 2021;20(1):72.
21. Zheng W, Cui T, Li H. Combined technologies for the remediation of soils contaminated by organic pollutants. A review. *Environ Chem Lett.* 2022;20(3):2043-62.

22. Massot F, Bernard N, Alvarez LMM, Martorell MM, Mac Cormack WP, Ruberto LA. Microbial associations for bioremediation. What does “microbial consortia” mean?. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2022;106(7):2283-97.
23. Zhang T, Zhang H. Microbial consortia are needed to degrade soil pollutants. *Microorganisms.* 2022;10(2):261.
24. Kour D, Kaur T, Devi R, Yadav A, Singh M, Joshi D, et al. Beneficial microbiomes for bioremediation of diverse contaminated environments for environmental sustainability: present status and future challenges. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021;28(20):24917-39.
25. Patel AB, Shaikh S, Jain KR, Desai C, Madamwar D. Polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, toxicity, and remediation approaches. *Front Microbiol.* 2020;11:562813.
26. Yan S, Wu G. What is the Advantage for Bacteria to Use Polycyclic Aromatic Hydrocarbons as Carbon Source under Aerobic Condition. *Biomed J Sci Tech Res.* 2020;30(3):23390-400.