

RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON TOXAFENO A TRAVÉS DE SUSTRATOS ORGÁNICOS PRETRATADOS CON HONGOS

JORGE LUNA FONTALVO¹, ISAAC ROMERO BORJA², SANDRA VERA RAMÍREZ³:

1. Magister en Microbiología, Docente Programa de Biología – Universidad del Magdalena, Colombia. jorgealbertolunafontalvo@gmail.com
2. Biólogo – Especialista en gestión Ambiental, Laboratorio de Calidad de agua, Facultad de Ingeniería - Universidad del Magdalena – Colombia. lrromero149@gmail.com
3. Bióloga, Programa de Biología Universidad del Magdalena – Colombia. sandra.vera382@gmail.com

El toxafeno es un plaguicida policlorado que se empleó por muchos años en los cultivos de algodón. Su uso fue restringido por su alto grado de toxicidad para el medio ambiente y salud humana a través de la Convención de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes. Luego de su prohibición, en la central de algodóneros del corregimiento de Caracolicito (Departamento del Cesar, Colombia) realizaron prácticas de manejo inadecuadas que generaron la contaminación del suelo. Debido a esta problemática y a la importancia que tienen los hongos ligno-celulolíticos, esta investigación tuvo como objetivo evaluar la degradación del toxafeno presente en el suelo utilizando sustratos orgánicos inoculados con dos especies de hongos, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*. Para tal fin, se conformaron mezclas de suelo contaminado con aserrín y cascarilla de arroz inoculados con las cepas de hongos seleccionadas en proporciones p/p (1/1) durante cinco meses. La extracción de toxafeno del suelo se realizó a través de digestión con solventes y sonicación y la cuantificación por cromatografía de gases. Así mismo, se evaluaron los parámetros físico-químicos (humedad, pH, carbono, materia orgánica, fósforo y nitrógeno). Los resultados muestran que los hongos presentan capacidad para biodegradar toxafeno especialmente si actúan sinérgicamente sobre el sustrato de cascarilla de arroz y aserrín/cascarilla de arroz donde se observó un 90% de degradación. Así mismo, el suelo biotratado presentó aumento de carbono, materia orgánica, pH y contenido de nutrientes. Con este estudio se demuestra que los hongos ligno-celulolíticos masificados en sustratos orgánicos de origen agroforestal resultan como una alternativa para la recuperación o biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas como el toxafeno.

Palabras claves: Contaminación, Plaguicidas, Biodegradación, Hongos Ligno-celulolíticos.

RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON TOXAFENO A TRAVÉS DE SUSTRATOS ORGÁNICOS PRETRATADOS CON HONGOS

JORGE LUNA FONTALVO¹, ISAAC ROMERO BORJA², SANDRA VERA RAMÍREZ³:

1. Magister en Microbiología, Docente Programa de Biología – Universidad del Magdalena, Colombia. jorgealbertolunafontalvo@gmail.com
2. Biólogo – Especialista en gestión Ambiental, Laboratorio de Calidad de agua, Facultad de Ingeniería - Universidad del Magdalena – Colombia. lrromero149@gmail.com
3. Bióloga, Programa de Biología Universidad del Magdalena – Colombia. sandra.vera382@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El toxafeno es un compuesto orgánico persistente (COP), policlorado conformado por más de 200 moléculas altamente resistente a la degradación biológica, fotolítica y química (Vetter y Oehme). Es un compuesto toxico potencialmente carcinógeno, que puede causar daños neurológicos y defectos congénitos (Environmental Protection Agency, 2010). Conocidos los efectos del toxafeno en el ambiente y en la salud humana, este plaguicida fue prohibido en la mayoría de los países durante la década de 1980, pero se continuó usando toxafeno en grandes cantidades (Voldner y Li, 1993).

Con la prohibición del toxafeno y de otros compuestos xenobióticos en Colombia, se generaron grandes cantidades de pesticidas obsoletos que se almacenaron sin cumplir con las normas de manejo integral de sustancias tóxicas. Por consiguiente, en 1996 en el corregimiento de Caracolicito (municipio del Copey) muchos tambores de toxafeno fueron almacenados en las bodegas de Cenalgodón sin ningún tipo de protección al medio ambiente (Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 1997), causando la contaminación de 4913,8 m² de suelo con toxafeno (Facultad de Agronomía -Universidad Nacional de Colombia, 2010).

El área afectada se encuentra a las afueras del corregimiento de Caracolicito, representando un riesgo para la salud de las poblaciones humanas cercanas, debido a que en temporadas de lluvia la contaminación puede extenderse a otras fuentes de agua por medio de escorrentías. La contaminación del suelo por el toxafeno radica principalmente en que es un compuesto químico de gran tamaño molecular, recalcitrante, alto número de cloros, poco soluble en agua y se adhiere fuertemente al suelo (Luo *et al.* 2015), que limitan su biodegradación (Arbeli, 2009).

Una alternativa para la recuperación de ambientes contaminados es a través del aprovechamiento que poseen los microorganismos en degradar sustancias o compuesto tóxicos, a este proceso se le conoce como biorremediación (Alexander, 1999). Sin embargo, en la biodegradación de toxafeno aún no se conocen con exactitud los microorganismos implicados y los productos resultantes de este proceso (Baughman *et al.*, 2010). Con hongos ligno-celulíticos se reporta el trabajo realizado

por Lacayo *et. al.*, (2006), donde la biodegradación de toxafeno con *Bjerkandera adusta* fue de un 85%, 52% y 49% en los sustratos de cascara de trigo, virutas de madera y melaza respectivamente. Estos basidiomicetes pueden tomar contaminantes organoclorados como fuente de carbono, crecer a pH bajo y en sustratos orgánicos (residuos agroforestales) de muy bajo costo que promueven su crecimiento e incrementan la degradación del contaminante (Aust y Benson, 1993), las enzimas de estos hongos catalizan la oxidación de la lignina y por su naturaleza inespecífica tienen la capacidad de degradar compuestos xenobióticos con estructura química similar a la lignina (Domínguez *et. al.*, 2010).

Teniendo en cuenta la capacidad degradativa de los hongos de la podredumbre blanca (HPB) es posible encontrar un mecanismo biológico que pueda solucionar o disminuir el problema de contaminación ambiental en la zona afectada del corregimiento de Caracolito. *Pleurotus ostreatus* presenta un sistema enzimático extracelular no específico (lacasa, MnP y LiP) que puede romper diferentes enlaces y por lo tanto degradar diversos compuestos orgánicos (Coello, 2011) y las enzimas extracelulares de *Ganoderma lucidum* como la lignina peroxidasa (LiP) poseen un potencial de oxidación-reducción muy alto. Por lo tanto, estos hongos poseen la capacidad de oxidar compuestos xenobióticos que no son atacados por otras peroxidases (Ten Have y Teunissen, 2001).

Dado el poco conocimiento en la biorremediación de suelos contaminados con toxafeno. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la recuperación de suelos contaminados con toxafeno utilizando cepas de hongos ligno-celulolíticos como *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* a través de un proceso de biorremediación por bioaumentación en condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras se colectaron en las antiguas bodegas de Cenalgodón en el corregimiento de Caracolito (Copey - departamento del Cesar). El suelo fue depositado en bolsas plásticas de 1 kg con cierre hermético y se trasladaron al Laboratorio de Calidad de Agua de la Universidad del Magdalena. El suelo fue tamizado con el fin de obtener un tamaño máximo de partícula de 2 mm y separarlo de otros restos.

Por otro lado, se tomaron bolsas que contenían por separado porciones de cascarillas de arroz y aserrín, las cuales fueron previamente inoculadas con las cepas de *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*. Estas bolsas presentaron como característica una coloración blanca proveniente de la colonización del micelio de los hongos mencionados.

Seguidamente, se procedió a realizar mezclas de suelo contaminado con los sustratos orgánicos inoculados con las cepas fúngicas (Tabla 1). Las mezclas se realizaron por triplicado en proporción peso/peso (1/1) correspondiendo 500 g de suelo contaminado y 500 g de sustrato inoculado. Posteriormente, se colocaron en bandejas plásticas en condiciones aeróbicas y se mantuvieron a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) hidratándolas con agua destilada (20 mL por bandeja cada 3 días) durante 150 días, removiendo las mezclas en cada hidratación según el criterio del investigador.

Tabla 1: Mezclas de suelo contaminado con toxafeno y residuos orgánicos inoculados con hongos.

Sustratos	Siglas	Tratamientos
Controles	ST	Suelo contaminado con toxafeno
	STA	Suelo contaminado con toxafeno + Aserrín sin inocular
	STC	Suelo contaminado con toxafeno + Cascarilla de arroz sin inocular
Grupo 1 Suelo + Aserrín	STAP	Suelo contaminado con toxafeno + Aserrín inoculado con <i>P. ostreatus</i>
	STAG	Suelo contaminado con toxafeno + Aserrín inoculado con <i>G. lucidum</i>
	STAPG	Suelo contaminado con toxafeno + Aserrín inoculado con <i>P. ostreatus</i> + Aserrín inoculado con <i>G. lucidum</i>
Grupo 2 Suelo + Cascarilla de arroz	STCP	Suelo contaminado con toxafeno + Cascarilla de arroz inoculado con <i>P. ostreatus</i>
	STCG	Suelo contaminado con toxafeno + Cascarilla de arroz inoculado con <i>G. lucidum</i> .
	STCPG	Suelo contaminado con toxafeno + Cascarilla de arroz inoculado con <i>P. ostreatus</i> + Cascarilla de arroz inoculado con <i>G. lucidum</i> .
Grupo 3 Suelo + Aserrín + Cascarilla de arroz	STAPAGPCPG	Suelo contaminado con toxafeno + Aserrín inoculado con <i>P. ostreatus</i> + Aserrín inoculado con <i>G. lucidum</i> + Cascarilla de arroz inoculado con <i>P. ostreatus</i> + Cascarilla de arroz inoculado con <i>G. lucidum</i>

La degradación del toxafeno se determinó mediante análisis cromatográfico cada 30 días hasta completar 150 días de estudio. De cada bandeja se pesaron 5 g de suelo previamente secado al aire y luego fue depositado en tubos de vidrio con tapa rosca de 20 mL, se agregó 5 g de sulfato de sodio y 10 mL de isooctano, las muestras se agitaron vigorosamente y se sometieron a baño de ultrasonido con sonicador por 18 horas. Finalizado el tiempo de las muestras en el ultrasonido, se tomó el solvente con jeringa y aguja, luego se filtró el solvente con filtro de nylon (Sartorius NY 0.20 µm). Las primeras 5 gotas del filtrado se descartaron y el restante se depositó en un vial de cromatografía.

La cuantificación de toxafeno se realizó con un cromatógrafo de gases marca Shimadzu GC-2014, equipado con automuestreador AOC-20s, autoinyector AOC-20is, columna DB-XLD (30 metros por 0.25 mm diámetro interno, 0.25 µm de espesor) y detector FID. Se utilizó helio como gas de arrastre y nitrógeno como gas make up, temperatura a 220°C en el puerto de inyección y la temperatura de la columna programada a 170°C (2 min) aumentando 7°C/min hasta 210°C (0 min), 4°C/min hasta 250°C (0 min) y 2°C/min hasta 280°C manteniéndose por 7 minutos, la temperatura del detector a 300°C. Modo de inyección Split, inyectando 1.0 µl de muestra.

La curva de calibración se realizó con ocho concentraciones (50, 100, 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 mg*L⁻¹) por triplicado, es decir, tres inyecciones por concentración y coeficiente de determinación (r²: 0.9948). Los cromatogramas de los patrones de toxafeno se integraron por picos, con tiempos de retención de: 14.056 min, 15.956 min, 19.973 min, 20.075 min, 21.781 min y 23.717 min.

Adicionalmente, se realizaron análisis fisicoquímico a las muestras de suelo (Tabla 2) siguiendo la metodología descrita por el IGAC (2006).

Tabla 2. Determinación de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos en las muestras de suelo contaminado con Toxafeno (Caracolicito – Cesar)

Parámetros	Método	Unidad de medida
Humedad	Gravimétrico	%
pH	Potenciométrico	
Carbono orgánico	Volumétrico	%
Materia orgánica	Volumétrico	%
Nitrógeno total (% N)	Kjeldahl	%
Fosforo (% P)	Olsen	%

La cuantificación del toxafeno y parámetros fisicoquímicos determinados en los diferentes tratamientos y tiempo de extracción fueron analizados mediante pruebas no paramétricas según Kruskal-Wallis ($\alpha = 0,05$). Los análisis estadísticos se realizaron con Minitab 15.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las mezclas conformadas por suelo contaminado con aserrín y cascarilla de arroz presentaron menores concentraciones de toxafeno al compararse con el suelo contaminado (ST). Probablemente, estos sustratos estimulan a las poblaciones microbianas del suelo con capacidad de degradar el plaguicida (Fig. 1a). Así mismo, en las mezclas que incluyeron suelo con cascarilla de arroz y aserrín/cascarilla de arroz inoculados con *P. ostreatus* y *G. lucidum* se logró remover un 90% de toxafeno luego de los 30 días (Fig. 1c; 1d). Estadísticamente, en la prueba de Kruskal-Wallis se determinó que existen diferencias significativas en los tratamientos de biodegradación ($p < 0,05$).

Lacayo *et al.* (2006) reportaron en unos ensayos de biodegradación de toxafeno con el hongo *Berjerkandera adusta* inoculado en sustratos de cascara de trigo, virutas de madera y melaza degradando un 85%, 52% y 49% de toxafeno respectivamente. En nuestro estudio la remoción de toxafeno es mayor, la acción sinérgica de los hongos pueden acelerar el proceso de biodegradación con mayor producción de las enzimas (lacasas y peroxidasas) que participan en el proceso de biotransformación (Gramos *et al.* 1999; Okeke *et al.* 1994). Los sustratos pudieron estimular la síntesis de estas enzimas (Quintero *et al.* 2006). Siendo la LiP (Lignina peroxidasa) la enzima que probablemente participa en la degradación de toxafeno (Lacayo *et al.* 2006).

En esta investigación no se evaluó la actividad enzimática; sin embargo, los hongos de la pudrición blanca como *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* cumplen un papel eficaz en los procesos de degradación de plaguicidas organoclorados por medio de su sistema enzimático (Mendoza, 2006). Las enzimas lignina-peroxidasa, manganeso-peroxidasa y lacasa de *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma zonatum* y *Ganoderma australe* se les ha comprobado potencial degradativo en algunos

compuestos químicos complejos como el DDT y lindano (Chung *et al.* 2009; Domínguez *et al.* 2010. Dritsa *et al.* 2005). Por lo tanto, se sugiere que los procesos enzimáticos están involucrados en la biodegradación de toxafeno presente en el suelo contaminado del Copey.

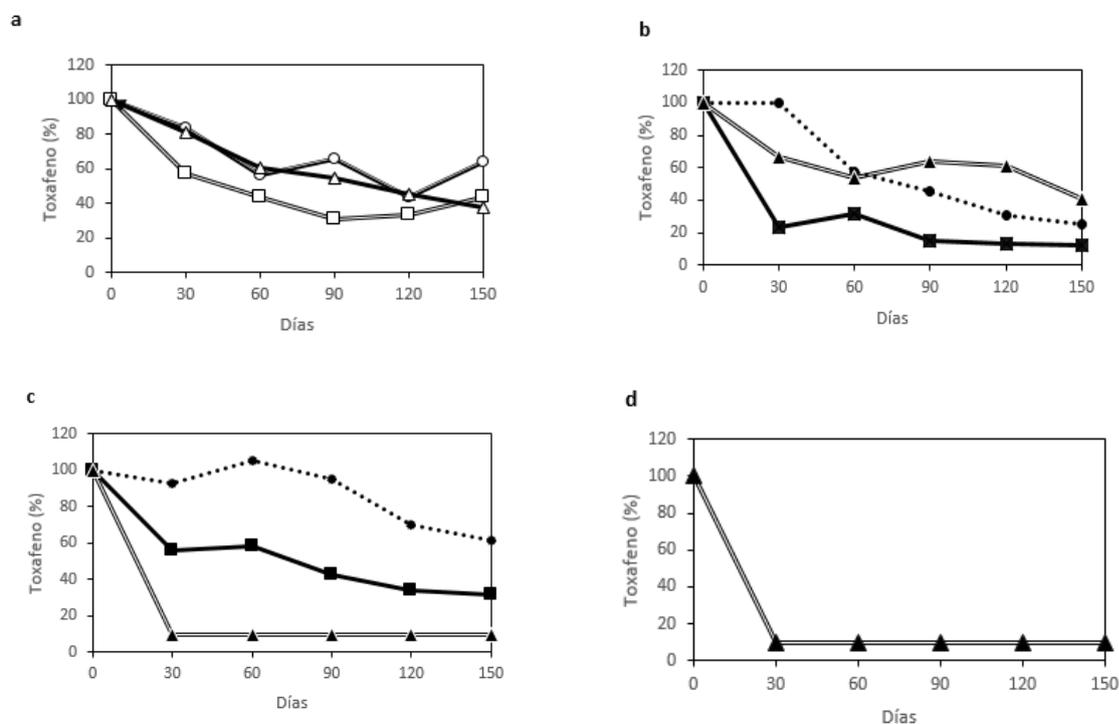


Figura 1. Evolución temporal de la concentración de toxafeno en los ensayos: **a.** Controles. Suelo contaminado/sin sustrato representado por círculo; Suelo contaminado/Aserrín por cuadrado; Suelo contaminado/Cascarilla arroz por triángulo. **b.** Tratamientos inoculados con hongos en Aserrín, **c.** Cascarilla de Arroz, **d.** Aserrín/Cascarilla de arroz. Los hongos representados así: *P. ostreatus* por línea punteada círculo negro; *G. lucidum* por línea solida cuadrado negro; *P. ostreatus/G. lucidum* por doble línea triángulo.

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la caracterización fisicoquímica realizada al suelo durante el estudio (0, 60 y 150 días).

El contenido de humedad del suelo fue bajo en todos los tratamientos a los 0 días, encontrándose el menor porcentaje en STAPG (suelo contaminado/Aserrín/*P. ostreatus/G. lucidum*) y el mayor porcentaje en STAPAGPCPG (suelo contaminado/Aserrín/Cascarilla de arroz/*P. ostreatus/G. lucidum*). En el segundo tiempo (60 días) se observó que la humedad aumentó en todos los tratamientos con la incorporación de los sustratos de aserrín y cascarilla de arroz. Sin embargo, en el último tiempo de estudio (150 días) la humedad del suelo disminuyó. Estadísticamente no se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$). Los valores de pH en los controles fue de 5,74 y 6,76 registrados al inicio del estudio (0 días) y de 5,35 a 6,26 en la etapa final (150 días). En las mezclas de suelo con los sustratos inoculados se observó una disminución del pH, en la etapa inicial los valores fueron de 6,35 a 7,40

y de 5,29 a 6,74 en el último tiempo evaluado. Se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las mezclas ($p=0,05$).

El mayor contenido de carbono orgánico se determinó en las mezclas formadas por suelo contaminado con aserrín y cascarilla de arroz inoculadas con los dos hongos (STAPAGCPCG), mientras que el control suelo contaminado (ST) presentó el menor porcentaje de carbono durante todo el tiempo de estudio. Estadísticamente existen diferencias significativas ($p < 0,05$). En cuanto al contenido de materia orgánica los resultados indicaron que el suelo inoculado con hongos (*P. ostreatus* y *G. lucidum*) es rico en materia orgánica, se observó un alto porcentaje con valores de 5,11 a 17,5 al inicio del estudio y de 3,33 a 13,25 en el último tiempo evaluado. Mientras que en el control ST (suelo contaminado) el contenido de materia orgánica bajó registrando a los 0 y 60 días valores de 1,9 y 2,5 respectivamente pero que aumentó a 4,9 a los 150 días. Se determinaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Con respecto al contenido de nitrógeno y fósforo el suelo presentó un alto contenido de estos macronutrientes. En el primer tiempo (0 días) los niveles de nitrógeno oscilaron entre 0,26 a 0,87 y en el último tiempo (150 días) se registraron valores de 0,16 a 0,7. En el caso del fósforo, las mezclas de suelo y sustratos orgánicos pretratados con hongos presentan altos niveles de fósforo en todos los tiempos de estudio (0, 60, 150 días). Siendo la mezcla formada por suelo contaminado con cascarilla de arroz inoculada con *G. lucidum* (STCG) la que mostró mayor contenido de fósforo, mientras que el control suelo contaminado mezclado con cascarilla de arroz (STC) registró los valores más bajos durante los 0 y 60 días. La variación de estos componentes demuestra que son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$).

La tendencia del pH registrado en los ensayos fue ligeramente ácido con un aporte medio de materia orgánica (2 - 3) lo que explica la permanencia del contaminante, dado que estos factores pueden causar mayor persistencia de los pesticidas en el suelo (Oloffs *et. al.*, 1971; Szeto y Price, 1991; Gong *et. al.*, 2004), además el bajo contenido de humedad encontrado disminuye la actividad microbiana (Eweis *et. al.*, 1999) lo que afecta la tasa de biodegradación. Mientras que en el suelo contaminado inoculado con los hongos (biotratamientos), se observó que las condiciones de pH, carbono y materia orgánica permitieron el crecimiento de los hongos. El pH presentó valores cercanos a la neutralidad que favoreció el desarrollo de los hongos (Ocampo *et. al.*, 2002) y la solubilización del fósforo (Atagana, 2004), con aumento en el contenido de carbono y materia orgánica del suelo, se presenta mejor actividad microbiana y mayor biodegradación del contaminante (Cruz, 2007).

Los resultados obtenidos en las variables físico-químicas indican que el proceso de atenuación natural es insuficiente en la degradación del plaguicida teniendo en cuenta que el tiempo de contaminación es de 22 años, y aún se encuentran concentraciones elevadas de toxafeno en el suelo (290 ppm), con un contaminante que presenta una vida media de 10 años. Si bien el suelo presenta un aporte medio de materia orgánica que pueda estimular la población microbiana, este factor es inútil debido a la pérdida de microorganismos generada tras la contaminación, la acidez del suelo y el bajo contenido de humedad.

Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos evaluados en el suelo en las diferentes mezclas de biodegradación

TTO	Suelo Contaminado			Suelo Contaminado			<i>Pleurotus ostreatus</i>			<i>Ganoderma lucidum</i>			<i>P. ostreatus / G. lucidum</i>																		
	Suelo Contaminado			Aserrín			C. Arroz			Aserrín			C. Arroz			Aserrín			C. Arroz			Aserrín/C. Arroz									
Tiempo (días)	0	60	150	0	60	150	0	60	150	0	60	150	0	60	150	0	60	150	0	60	150	0	60	150	0	60	150				
Parámetros	% C	2,5	1,2	1,2	5,0	3,8	3,34	3,1	2,2	1,8	5,0	2,1	7,3	2,6	1,0	2,4	5,71	5,8	7,27	5,3	2,8	6,0	5,1	4,5	5,5	3,4	2,9	2,7	9,7	6,9	7,7
	%MO	4,2	2,57	2,0	7,9	6,2	6,52	5,8	3,5	2,7	8,6	3,9	12	5,1	1,8	3,3	10,3	9,4	13,1	9,2	5,1	10	9,0	7,7	9,3	6,8	5,1	4,6	17,5	11,8	13,3
	% N	0,8	0,77	0,62	0,23	1	0,82	2	1,8	1,0	0,4	0,2	0,6	0,3	0,09	0,2	0,51	0,5	0,65	0,5	0,3	0,5	0,4	0,4	0,47	0,3	0,3	0,2	0,9	0,6	0,7
	% P	34	56	43	56	51	64	42	34	56	67	81	92	67	54	87,8	77	80,2	92,1	97	94,9	131	52,4	66,3	79,1	66	77,2	96	88	91,4	123
	% H	7,5	11	13,6	12,4	16	26,6	11,1	11,7	4,7	12	22	11	16	30,7	5,82	8,7	25,8	18,3	19	23,5	5,2	2,6	23,5	11,4	5,8	16,8	2,6	20,5	24,2	3,6
	pH	5,7	4,85	5,35	6,76	6,4	6,26	5,74	5,8	6,1	7,0	6,4	6,4	6,7	5,9	5,3	7,11	6,49	6,67	6,9	6,3	5,7	7,4	6,83	6,71	6,4	6,5	6,5	6,7	6,43	6,7

Así mismo con el establecimiento de los ensayos de biodegradación, el suelo presenta mejores condiciones físico-químicas, con el aumento en el contenido de carbono, materia orgánica, nutrientes (Nitrógeno y Fosforo) y pH neutro. Así mismo, favorece las condiciones en términos de productividad. Debido a que el carbono y la materia orgánica proporcionan los recursos energéticos necesarios para los organismos del suelo (Borie *et. al.*, 1999), e intervienen en distintos procesos como la retención de humedad, intercambio de iones, nutrientes, fortalecimiento de la estructura y reducción de pérdidas superficiales (Sanclemente, 2011), el pH neutro aumenta la actividad biológica y química del suelo, y los macronutrientes como el nitrógeno y fosforo generan la energía necesaria para la síntesis de biomasa (Madigan *et. al.*, 1988; Eweis *et. al.*, 1999).

CONCLUSIONES

La acción sinérgica de los hongos *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* en cascarilla de arroz y aserrín/cascarilla de arroz aumentan la degradación de toxafeno en altos porcentajes, disminuyendo el tiempo de biorremediación del suelo. Así mismo, la degradación del plaguicida se atribuye a procesos enzimáticos en el que participan probablemente la lacasa, LiP y MnP.

La incorporación de los sustratos inoculados con hongos en el suelo contaminado con toxafeno tiende al incremento en el contenido de carbono y de materia orgánica, y mejoran las condiciones nutricionales del suelo principalmente nitrógeno y fosforo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander M. (1999) Biodegradation and bioremediation, Academic Press. London
- Arbeli, Z. (2009). Biodegradation of persistent organic pollutants (POPs): I. The case of polychlorinated biphenyls (PCB). *Acta Biológica Colombiana*; 14(1): 55-86
- Atagana, H. 2004. Bioremediation of Creosote contaminated soil in South Africa by Landfarming. *Journal of Applied Microbiology* 96: 510 -520
- Aust, D., Benson, J. (1993). The fungus among us: Use of white rot fungi to biodegrade environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives* 101(3): 232-233
- Baughman, C., Bhattacharyya, T., Schanamann, S., Tafer, F., Wilson, M. (2010). More Information is Needed on Toxaphene Degradation Products. Report No. 2006-P00007, December 16, 2005. <http://www.epa.gov/oig/reports/2006/20051216-2006P-00007.pdf>
- Borie, G., Aguilera, S.M., Peirano, P. (1999). Actividad biológica en suelos. *Frontera Agrícola*. 5: 29-32
- Chung, T., Khue, D., Minh, D., Cheng, F. (2009). Use of fungal humus for 1,1,1-trichloro-2,2-bis (4-chlorophenyl) ethane (DDT) polluted soil treatment. *Asian Journal of chemistry* 21: 5967-5972
- Coello, J. (2011). Aplicación del hongo *Pleurotus ostreatus* como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Oceánicas, Biológicas, y Recursos Naturales

Cruz, M. (2007). La contaminación de suelo y agua. Su prevención con nuevas sustancias naturales. España. Secretariado de publicaciones. Universidad de Sevilla 21 (74): 48 – 50

Domínguez, O., Ramos–Leal, M., Manzano, A., Sánchez, M., Sánchez, A., Argüelles, J., Guerra, G. (2010). Biodegradación de DDT por dos cepas nativas de hongos de la podredumbre blanca. Revista de Centro Nacional de Investigaciones Científicas CENIC. Ciencias Biológicas. 41: 1 – 12

Dritsa, V., Rigas, F., Avramides, E., Hatzianistis, I. (2005). Biodegradation of lindene in liquid cultures by the polypore fungus *Ganoderma australe*, in 3rd European Biorremediation Conference, Crania, Greece.

Environmental Protection Agency. (2010). Reference Guide to Non-combustion Technologies for Remediation of Persistent Organic Pollutants in Soil, Second Edition – 2010. Disponible en: www.clu-in.org/POPs

Eweis, J., Ergas, S., Chang, D., Schroeder, E. (1999). Principios de biorecuperación. 2da edición. Mc Graw Hill. Madrid -España

Facultad de Agronomía – Universidad Nacional de Colombia. (2010). Análisis de riesgo del sitio contaminado antiguas bodegas de la central algodонера en liquidación (Cenalgodón) en el corregimiento de Caracolcito, municipio del Copey (Cesar). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 117p.

Gong, Z.M., Tao, S., Xu, F.L., Dawson, R., Liu, W.X., Cui, Y.H., Cao, J., Wang, X.J., Shen, W.R., Zhang, W.J., Qing, B.P., Sun, R. (2004). Level and distribution of DDT in surface soils from Tianjin, China. Chemosphere 54: 1247-1253

Gramos, G., Kirsche, B., Voigt, K.D., Gunther, T., Fritsche, W. (1999). Conversion rates of five polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid cultures of fifty-eight fungi and the concomitant production of oxidative enzymes. Mycological Research 103: 1009–1018

Lacayo-Romero, M., Terrazas, Van- Bavel, B., Mattiasson, B. (2006). Degradation of toxaphene by *Bjerkandera* sp. strain BOL13 using waste biomass as a cosubstrate. Applied Microbiology and Biotechnology 71: 549 – 554

Luo, J., Hu, J., Wei, Fu., Li, L. (2015). Dehalogenation of persistent halogenated organic compounds: A review of computational studies and quantitative structure–property relationships. Chemosphere, 131: 17-33

Madigan, M., Martinko, J., Parker, J. (1998). Biología de los microorganismos. 8ª edición. Prentice Hall. Iberia-Madrid

Mendoza, G.M. (2006). Degradación de endosulfán por *Pleurotus* spp. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Chiapas

Ocampo, J., Robles, D., Wu, A. (2002). El Compostaje como método de Biorremediación de Suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis Pregrado. Universidad Nacional Agraria La Molina.

- Okeke, B.C., Paterson, A., Smith, J.E., Watson-Craik, I.A. (1994). Relationships between ligninolytic activities of *Lentinula* spp and biotransformation of pentachlorophenol in sterile soil. *Letters in Applied Microbiology* 19: 284–287
- Oloffs, P.C., Szeto, S.Y., Webster, J.M. (1971). Translocation of Organochlorine Pesticide Residues from Soils into Carrots. *Canadian Journal of Plant Science* 51: 547-550
- Quintero, J., Feijoo, G., Lema, JM. (2006). Producción de enzimas ligninolíticas con hongos basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos. *Vitae* 13: 61-67
- Sanclemente, O. (2011). Propiedades y contaminación del suelo. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio ambiente.
- Szeto, S.Y., Price, P.M. (1991). Persistence of Pesticide Residues in Mineral and Organic Soils in the Fraser Valley of British-Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39: 1679-1684
- Ten Have, R., Teunissen, P. (2001). Oxidative Mechanisms Involved in Lignin Degradation by White-Rot Fungi. *Chemical Reviews*; 101: 3397-3413
- Vetter, W., Oehme, M. (2000). Toxaphene. Analysis and Environmental Fate of Congeners. *The Handbook of Environmental Chemistry* 3: 237-287
- Voldner, EC., Li, YF. (1993). Global usage of toxaphene. *Chemosphere* 27(10): 2073–2078