



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA



CEIB
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN BIOTECNOLOGÍA UAEM

**“Evaluación de un sistema de cama biológica bioaumentado
con *Burkholderia cenocepacia* CEIB S5-2 como alternativa para la
degradación de *p*-nitrofenol”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN BIOTECNOLOGÍA

P R E S E N T A:

Biól. Yadira Ángeles Velázquez

DIRECTORES DE TESIS

Dra. Patricia Mussali Galante

Dr. Alexis Joavany Rodríguez Solís

CUERNAVACA, MORELOS

Mayo, 2026



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS**



CEIB
CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN BIOTECNOLOGÍA UAEM

**Ciencia y
Tecnología**

Secretaría de Ciencia, Humanidades,
Tecnología e Innovación



EL PRESENTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN SE REALIZÓ EN EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS, COMO PARTE DE LOS REQUISITOS DE EGRESO DEL PROGRAMA DE LA MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA (SNP-SECIHTI 356).

CONTÓ CON EL APOYO DE LA SECRETARÍA DE CIENCIA, HUMANIDADES, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN (SECIHTI) A TRAVÉS DEL PROYECTO “SISTEMA DE TRATAMIENTO PARA LA ELIMINACIÓN DE GLIFOSATO, PARAQUAT Y ATRAZINA, HERBICIDAS ALTAMENTE CONTAMINANTES, BASADO EN BIOMASA RESIDUAL AGRÍCOLA Y DE ESPECIES INVASORAS COMO SOPORTE DE MICROORGANISMOS DEGRADADORES”, CON NÚMERO CBF2023-2024-2134, DEL CUAL FUNGIÓ COMO RESPONSABLE TÉCNICO EL DR. ALEXIS J. RODRÍGUEZ SOLÍS (CVU: 172816), Y LA BECA PARA ESTUDIOS DE POSGRADO OTORGADA A LA BIOL. YADIRA ÁNGELES VELÁZQUEZ (CVU: 1335927).

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
I. MARCO TEÓRICO.....	5
I.1 Plaguicidas: Usos, impacto ambiental y a la salud humana.....	5
I.2 Plaguicidas organofosforados: Paratión Metílico y p-nitrofenol.....	6
I.3 Contaminación puntual por plaguicidas.....	9
I.4 Biorremediación.....	11
I.4.1 Biorremediación de plaguicidas a través del sistema de camas biológicas o “biobeds”.....	12
II. ANTECEDENTES.....	16
I.4.2 Factores que afectan la biodegradación en el sistema de cama biológica.....	18
III. JUSTIFICACIÓN.....	22
IV. HIPÓTESIS.....	22
V. OBJETIVOS.....	22
V.1 OBJETIVO GENERAL.....	22
V.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
VI.1 Muestreo de suelo, obtención de composta y paja.....	23
VI.2 Preparación de la biomezcla y establecimiento de las variables de operación del sistema de camas biológicas.....	24
VI.3 Obtención y determinación del tamaño de inóculo de B. cenocepacia CEIB S5-2... 25	25
VI.4 Establecimiento del sistema de camas biológicas para la degradación de PNF.....	26
VI.4.1 Cuantificación de la concentración de PNF en el sistema de camas biológicas.....	27
VI.5 Obtención de datos y análisis estadísticos.....	28
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
VII.1 Caracterización de los materiales de la biomezcla (suelo, composta y paja de trigo).. 29	29
VII.2 Condiciones para el establecimiento del sistema de cama biológica.....	32
VII.3 Degradación de PNF en sistema de camas biológicas.....	32
VII.4 Evaluación del comportamiento de la cepa B. cenocepacia CEIB S5-2 dentro del sistema de camas biológicas.....	39
VIII. CONCLUSIONES.....	42
IX. PERSPECTIVAS.....	43
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Investigaciones sobre camas biológicas en México	16
Tabla 2. Microorganismos aerobios degradadores de PNF	20
Tabla 3. Parámetros obtenidos del análisis de suelo y composta	29
Tabla 4. Características fisicoquímicas de la paja de trigo.	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vías oxidativas del PNF mediada por bacterias Gram negativas y Gram positivas. Tomado y modificado de Castrejón-Godínez <i>et al.</i> , 2019.	9
Figura 2. Localización de los sitios identificados en los que se reporta la presencia y niveles medidos de plaguicidas.	10
Figura 3. Diagrama de una cama biológica (CropLife LA, 2017)	13
Figura 4. funcionalidad de la cama biológica. (Tomado y modificado de Mussali-Galante <i>et al.</i> , 2023)	14
Figura 5. Diseños de camas biológicas en países europeos y en Guatemala	15
Figura 6. Ubicación de la parcela agrícola “La Joya” en el municipio de Jojutla de Juárez, Morelos.	23
Figura 7. Composición del microcosmos utilizado para el sistema de camas biológicas.	25
Figura 8. Técnica de recuento en placa para determinación de UFC/mL de la cepa de <i>B. cenocepacia</i> CEIB S5-2	26
Figura 9. Diseño experimental del sistema de camas biológicas para degradación de PNF	26
Figura 10. Curva dosis respuesta a diferentes concentraciones de PNF	27
Figura 11. Porcentajes de degradación de PNF con una concentración inicial de 25 mg/g, por efecto de la cepa CEIB S5-2 en un sistema de camas biológicas con y sin bioaumentación. Los * indican las diferencias estadísticamente significativas en los tiempos del tratamiento (36 a 60 horas) $p < 0.05$.	33
Figura 12. Modelo de degradación de PNF con una concentración inicial de 25 mg/g, en un sistema de camas biológicas ajustado a un modelo cinético de primer orden.	35
Figura 13. Porcentajes de degradación de PNF con una concentración inicial de 50 mg/g, por efecto de la cepa CEIB S5-2 en un sistema de camas biológicas con y sin bioaumentación. Los * indican las diferencias estadísticamente significativas en los tiempos del tratamiento (36 a 60 horas) $p < 0.05$	36
Figura 14. Modelo de degradación de PNF con una concentración inicial de 25 mg/g, en un sistema de camas biológicas ajustado a un modelo cinético de primer orden.	38
Figura 15. Colonias aisladas de la biomezcla, dilución 10^{-6} en placa suplementada con 50 mg/L de PNF. Morfología bacilo Gram negativo observada característica de la cepa <i>B. cenocepacia</i> CEIB S5-2.	39
Figura 16. Degradación de PNF y crecimiento de la cepa CEIB S5-2 en el sistema de camas biológicas durante 8 días. Condiciones experimentales: pH: 7.06-7.39; Temperatura: 30 °C; Humedad 70%.	40

RESUMEN

Ángeles Velázquez. Y. (2025). *Evaluación de un sistema de cama biológica bioaumentado con Burkholderia cenocepacia CEIB S5-2 como alternativa para la degradación de p-nitrofenol*. [Tesis de maestría no publicada]. Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Morelos, México.

Los plaguicidas organofosforados son los más utilizados a nivel mundial, siendo el Paratión Metílico (PM) el más común en México. Por hidrólisis el PM genera *p*-nitrofenol (PNF), el cual es más tóxico que el PM y su biodegradación es limitada, por lo que ocasiona daño a organismos acuáticos, terrestres y sobre todo a la microbiota del suelo. Por otro lado, la cepa *Burkholderia cenocepacia* CEIB S5-2, presenta potencial para la biorremediación en sistemas como las camas biológicas ideadas como una solución *in situ* para la mitigación de la contaminación por plaguicidas en sitios puntuales. En este estudio se evaluó la eficiencia de degradación de PNF mediante microcosmos con una biomezcla de paja, suelo y composta (2:1:1) con y sin bioaumentación bajo concentraciones de 25 y 50 mg/g de PNF, con parámetros de operación de 70% de humedad, 30°C y pH de 6.8-8.4. Se extrajo el PNF residual cada 12 horas durante 96 horas, calculando la concentración por HPLC. La biomezcla mostró parámetros fisicoquímicos adecuados de materia orgánica (14.84%), relación C/N (33.57), densidad aparente (0.9 mg/cm³) y pH (7.08-7.39). Hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$), entre tratamientos, en ambas concentraciones. Las tasas máximas de degradación con bioaumentación fueron el doble (0.580 y 1.151 mg/g*h) respecto a las determinadas en los sistemas sin bioaumentación (0.287 y 0.612 mg/g*h). De acuerdo con el modelo cinético de primer orden la eficiencia con bioaumentación incrementó 2.4 y 1.7 veces respecto al sistema no bioaumentado, reduciendo la vida media del PNF de 40.93 y 34.15 horas a 19.40 y 19.42 horas para los tratamientos con 25 y 50 mg/g respectivamente. Evidenciando así, que la bioaumentación con cepas especializadas en la degradación de compuestos orgánicos persistentes dentro del sistema de camas biológicas es una alternativa para la mitigación de estos compuestos en sitios puntuales de contaminación.

INTRODUCCIÓN

La degradación de plaguicidas es un tema crucial en la protección del ambiente y la salud humana, ya que la agricultura se apoya de estas sustancias tóxicas para aumentar y mantener la producción de alimentos alrededor del mundo, los plaguicidas controlan el daño por plagas en los cultivos y en el ganado, lo que beneficia a la seguridad alimentaria. Sin embargo, existen evidencias de impactos negativos a la salud humana y al ambiente por su uso (OMS, 2022). De acuerdo con *Pesticide Action Network (PAN) International*, a nivel mundial los envenenamientos ocupacionales en personas pasaron de 25 millones en 1990 a 385 millones en el 2020, reportando un 44% de trabajadores agrícolas intoxicados por plaguicidas, y 11 mil muertes anualmente (Boedeker *et al.*, 2020). Así mismo el uso de plaguicidas se ha incrementado en un 62% entre 2000 y 2021, a nivel mundial se utilizan principalmente en cultivos de caña de azúcar, maíz, trigo y arroz, mismos que representan la mitad del total de la producción de cultivos primarios (FAO, 2023).

Los principales plaguicidas que se usan en la agricultura son herbicidas, insecticidas, fungicidas y bactericidas, entre otros (FAO, 2022; Miglioranza, 2021), de los cuales los organofosforados (OF) son una de las categorías de plaguicidas sintéticos más utilizadas después de la prohibición de los organoclorados (OC) (Carriquiriborde, 2021). Los organofosforados a pesar de su toxicidad aguda en animales se introdujeron para poder utilizarlos como insecticidas en los cultivos, sobre todo por su baja persistencia en el ambiente (días hasta varias semanas) a comparación de los OC (décadas) (Goonasekera y Karalliedde, 2022).

El modo de acción de los OF es la inhibición de enzimas de la familia de las colinesterasas (esenciales para la transmisión normal de las señales a través de los nervios), convirtiéndolos en agentes neurotóxicos (Dyro, 2020; Carriquiriborde, 2021; Hernández-Castellanos, 2021). El uso continuo y excesivo de OF es responsable de varios problemas globales, como la contaminación del aire, el agua y los ecosistemas terrestres, la disminución de la diversidad de la microflora productiva del suelo, la interrupción de los ciclos biogeoquímicos y la muerte de formas de vida macroscópicas no objetivo (Pailan *et al.*, 2020), llegando a estos últimos a través de los alimentos, o puede absorberse fácilmente a través de la piel y los pulmones, lo que significa una gran amenaza para la salud humana y del ambiente (Kamal *et al.*, 2020).

En México, de acuerdo con el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), en 2020 se reportó que entre los plaguicidas con mayor frecuencia de uso se

encuentran los organofosforados, específicamente el PM es el de mayor uso en 70 cultivos, incluyendo vegetales, frutales, cereales y pastos. A pesar de tener una vida media teórica de semanas, el PNF principal producto de degradación, generado por la hidrólisis del PM, es persistente y recalcitrante en el ambiente, además de dañino para la microbiota, siendo necesario buscar alternativas para su degradación (ATSDR, 2017). Además, este compuesto se utiliza en la industria farmacéutica y en la producción de tinturas para oscurecer el cuero (ATSDR, 2023), por lo que no solo los trabajadores agrícolas están expuestos a este xenobiótico.

Aunque se han establecido las directrices de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) para evitar intoxicaciones por uso de plaguicidas, en ocasiones los agricultores las desconocen u omiten, provocando una contaminación no solo difusa, que es la aplicación en campo, sino desde el área destinada a la preparación de mezclas y donde se vierten los residuos del lavado de equipos de aplicación, también llamado sitio de contaminación puntual (López-Barillas, 2016; Quiroz-Medina, 2021), que si bien puede ser cerca de la bodega en donde se almacenan estos agroquímicos, regularmente suele ser en la cercanía del campo de cultivo, lo que provoca una exposición continua tanto de los trabajadores como de sus familias, así como su liberación al suelo, agua superficial y subterránea, y a la atmósfera, afectando negativamente a la flora y la fauna silvestres, lo que en el contexto integral, son el origen de graves problemas no sólo ecológicos, sino agronómicos; económicos y de salud pública (GOBMX, 2021; IICA, 2018; SADER, 2019).

En este contexto, se desarrolló en Suecia en la década de los noventa un sistema denominado *biobeds* o camas biológicas para prevenir la contaminación puntual por plaguicidas, originalmente la cama biológica es un espacio fijo, confinado, aislado e impermeable, efectiva para acumular, retener y degradar microbiológicamente los derrames de plaguicidas ocasionados al preparar las mezclas agrícolas, el llenado de los equipos de aplicación, sobrantes de uso agrícola y los enjuagues al lavar dichos envases (Castillo *et al.*, 2008; Serpa-Vásquez, 2022).

El elemento principal de la cama biológica se conforma de una biomezcla la cual contiene 25% de suelo agrícola, 25% de turba y 50% de paja de trigo (Castillo *et al.*, 2008). Hasta el momento se ha investigado e implementado diferentes diseños para diferentes situaciones, tipos de producción agrícola, condiciones climáticas y disponibilidad de recursos, con el objetivo de adaptarlos a cada realidad local (Universidad de La Frontera, 2013). Aunque los materiales de la biomezcla proveen naturalmente los microorganismos necesarios para la degradación de plaguicidas, existen estudios donde se ha inoculado la

biomezcla con el hongo de la podredumbre blanca *Trametes versicolor* como estrategia de bioaumentación para la degradación de fungicidas y de OF (Castro-Gutiérrez *et al.*, 2019), así mismo para compuestos OF en México se ha utilizado hojas y rastrojo de maíz, y algas marinas (Góngora-Echeverría *et al.*, 2018; Córdova-Méndez *et al.*, 2021) encontrando un consorcio de microorganismos que interactúan en la degradación de plaguicidas comerciales.

Si bien esta tecnología de biorremediación comenzó a investigarse en la última década en Latinoamérica, en México los trabajos sobre este sistema son limitados y no existe investigación para la degradación de PM bajo este sistema. No obstante existe evidencia de que la bacteria aislada por Popoca-Ursino (2012) perteneciente a la especie *Burkholderia cenocepacia* cepa S5-2, es capaz de hidrolizar plaguicidas organofosforados como el PM y de degradar el PNF el cual es más tóxico que el mismo PM (Fernández-López *et al.*, 2017; ATSDR, 2017). En el presente trabajo propuso evaluar un sistema de camas biológicas con la adición de *B. cenocepacia* cepa S5-2 para la degradación de *p*-nitrofenol resultante de la hidrólisis del organofosforado PM, y que pueda servir como alternativa para reducir la contaminación puntual por este plaguicida.

I. MARCO TEÓRICO

I.1 Plaguicidas: Usos, impacto ambiental y a la salud humana

Los plaguicidas son sustancias químicas destinadas a prevenir, controlar o destruir cualquier organismo que se considere como una plaga, ya sea en zonas agrícolas, ganaderas o urbanas, esto incluye a los vectores causantes de enfermedades humanas (García-Hernández *et al.*, 2018) y de acuerdo con el *CODEX alimentarius* de la FAO y la OMS (2024) el término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte.

Los plaguicidas pueden ser clasificados de acuerdo con FAO y OMS (2022) según su composición química, persistencia o por su uso. Entre los principales grupos de plaguicidas según su composición química se encuentran los organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, compuestos inorgánicos, biológicos y de composición diversa (Ortíz *et al.*, 2014). Estos compuestos tienen uso industrial, urbano, doméstico, pecuario, forestal y agrícola, siendo este último la actividad que más emplea este tipo de compuestos, consumiendo hasta el 85% de la producción mundial (Del Puerto-Rodríguez *et al.*, 2014).

En la actualidad el uso de plaguicidas en la agricultura ha ido en aumento, debido a la necesidad de producir una mayor cantidad de alimentos y evitar pérdidas en los cultivos, de los 3.7 millones de toneladas utilizadas en 2022 a nivel mundial, el 51% se utilizó en América, siendo el continente con la tasa de aplicación más elevada (FAO, 2024).

Su uso ha demostrado que tiene consecuencias negativas para el ambiente, ya que los plaguicidas se movilizan a través del aire, suelo y agua, provocando la contaminación de ecosistemas terrestres y acuáticos, es decir de plantas y animales que no son el objetivo, lo que puede reducir la biodiversidad y dañar a los organismos, incluidos los humanos (Arellano-Aguilar y Rendón-von Osten, 2016; García-Hernández *et al.*, 2018; Ordoñez-Beltrán *et al.*, 2019; FAO, 2022).

Se han reportado efectos adversos en la salud de los trabajadores agrícolas y sus familias, como alteraciones hematológicas, hormonales, daños genéticos, alteraciones del comportamiento y daños celulares; siendo los niños el grupo más vulnerable a la exposición (Ortíz *et al.*, 2014; García-Hernández *et al.*, 2018), asimismo el impacto en la salud en población no expuesta ocupacionalmente a plaguicidas resulta por la exposición crónica a pequeñas cantidades de estos compuestos, donde los efectos a largo plazo, se manifiestan en cáncer, efectos neurotóxicos, endócrinos, de la reproducción y otros (Silveira-Gramont *et al.*,

2018). También se han encontrado residuos de plaguicidas en alimentos como leche, hortalizas y granos (García-Hernández *et al.*, 2018).

La recopilación realizada por el Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC, 2020) sobre el uso de plaguicidas en México entre los años 1980 y 2018, indica que los principales plaguicidas utilizados con el mayor número de registros son: el Paratión Metílico (89), seguido del carbofurán (85), 2, 4-D (76), cipermetrina (74) y endosulfán (71); los cuales se encuentran incluidos en la lista de Plaguicidas Altamente Peligrosos (PAPs), de la PAN del 2021.

Entre los cultivos agrícolas donde se aplica el mayor número de plaguicidas se encuentran el maíz, chile, jitomate, caña de azúcar y sorgo; especies de gran relevancia para la dieta de los mexicanos; además del sorgo, de importancia forrajera para las actividades pecuarias. Asimismo, destacan los cultivos florícolas, los cuales son tratados con cargas importantes de plaguicidas, tal vez más que en los cultivos alimentarios, ya que no son plantas destinadas para el consumo humano o animal (INECC, 2020).

I.2 Plaguicidas organofosforados: Paratión Metílico y *p*-nitrofenol

Los plaguicidas organofosforados (OF) constituyen una de las familias de compuestos químicos de plaguicidas sintéticos más utilizadas a nivel mundial después de la prohibición de los organoclorados (Chowdhury *et al.*, 2014; Ranjan y Jindal, 2022). Originalmente los OF eran utilizados con fines bélicos, más tarde se descubrió su efecto insecticida, uno de los primeros plaguicidas OF producidos alrededor de 1944, fue el Paratión y comercializado por Bayer^{MR}, a finales de la década de los 90s, y ya para 1998 la Environmental Protection Agency (EPA) tenía registrado 20,000 productos plaguicidas (Prado-Flores *et al.*, 2017).

Los plaguicidas OF son ésteres, amidas o tioles derivados de los ácidos fosfórico, tiofosfórico, ditiofosfórico, fosfónico o fosfénico, inhiben enzimas con actividad de la acetilcolinesterasa, lo que produce una acumulación de acetilcolina y como consecuencia una alteración en el impulso nervioso (Marrero *et al.*, 2017; Prado-Flores *et al.*, 2017), en general son compuestos apolares lo que significa que desde el punto de vista químico la mayoría son escasamente solubles en agua, aunque con grandes diferencias de un compuesto a otro, y desde el punto de vista biológico son liposolubles. Por tal motivo, la piel, donde se encuentra una importante capa de tejido con elevado contenido en lípidos, puede constituirse en una importante vía de entrada (Obiols-Quinto, 1999).

En casos de intoxicación aguda en humanos con altas concentraciones de OF (entre 0.1 y de 5 g por kg) se produce una sobreestimulación del Sistema Nervioso Central y de 24 a

96 horas se produce parálisis de los músculos respiratorios que si persiste provocará insuficiencia respiratoria severa (Pino-Vázquez y Brezmes-Raposo, 2018; Richardson *et al.*, 2019). Por otra parte, la exposición crónica a OF se ha asociado con desórdenes neuropsiquiátricos inducidos, este desorden aparece tardíamente y persiste por un largo período, lo cual sugiere daño permanente del Sistema Nervioso Central (SNC) (Jokanović, 2018) lo que provoca el desarrollo a futuro, de las enfermedades de Parkinson (Manthripragada *et al.*, 2010) y de Alzheimer (Hayden *et al.*, 2010).

Aunque los OF, tienen una menor persistencia ambiental que los OC, debido a que los procesos de transformación ambiental se efectúan con mayor eficiencia sobre sus enlaces fosfoéster, en numerosas ocasiones la degradación parcial genera subproductos de mayor toxicidad que los compuestos originales, los cuales presentan además mayor persistencia en el ambiente (Vittozzi *et al.*, 2001), provocando que organismos no objetivo también se vean afectados por la exposición a OF, llegando a ellos a través de los alimentos, el aire, agua y otros medios, o puede absorberse fácilmente a través de la piel y los pulmones, lo que significa una gran amenaza para la salud y el ambiente (Kamal *et al.*, 2020; Ranjan y Jindal, 2022).

Los límites recomendados de exposición laboral del PM son de 0.2 mg/m³ en el aire durante un turno laboral de diez horas diarias; y 40 semanales, de acuerdo con el Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH). Mientras que la EPA permite 0.002 mg/L de PM en agua potable y un máximo de 0.2 mg/kg en ciertos alimentos (ATSDR, 2001).

En México la importancia ambiental y sanitaria de los plaguicidas OF, radica en que son el grupo químico más utilizado como insecticida, fungicida y herbicida en cereales, frutales, leguminosas, pastos, hortalizas, oleaginosas, y cultivos de importancia comercial como algodón, tabaco y café (Prado-Flores *et al.*, 2017). Entre ellos, el PM es el más utilizado como insecticida. Este plaguicida presente en el aire, es transformado rápidamente (aproximadamente 2 a 3 semanas) por la luz solar en un producto de degradación llamado paraoxón, una sustancia más tóxica que el PM. Por hidrólisis su vida media es de 1 a 4 meses dependiendo la temperatura y acidez del agua, generando PNF y ácido dimetiltiofosfórico (Pakala *et al.*, 2006; ATSDR, 2017). Aunque el PNF es menos tóxico que el PM para los animales superiores, muestra una mayor toxicidad hacia la microbiota del suelo debido a su acumulación (Ortiz-Hernández *et al.*, 2021; ATSDR, 2023).

El PNF es un contaminante ambiental sintético nitro aromático, precursor de productos farmacéuticos, plaguicidas y fungicidas, colorantes y como oscurecedor del cuero,

por lo que, puede encontrarse en los efluentes de estas industrias. Actualmente, se encuentra en la lista de sustancias altamente peligrosas y considerado posible cancerígeno en humanos por la Agencia de Protección al Ambiente (EPA, por sus siglas en inglés) (ATSDR, 2017; Tchien y Tonle, 2018).

Este compuesto se considera más tóxico que el PM en términos ambientales y crónicos debido a su persistencia en suelos y aguas profundas, la Unión Europea desde 2003 lo declara como uno de los tipos de contaminantes más importantes en la gestión de aguas residuales. Las personas están expuestas a los nitrofenoles en el ambiente, 1) mediante la respiración de aire contaminado, 2) nitrofenoles presente en agua potable, 3) el consumo de alimentos contaminados y 4) el contacto de la piel con los nitrofenoles. Cuando estos compuestos entran en el cuerpo humano, la sangre presenta reducción en la capacidad para llevar el oxígeno a diversos órganos y tejidos, además tiene efectos sobre el sistema nervioso (dolor de cabeza, ansiedad, debilidad, convulsiones e incluso la muerte), daño en pulmones, insuficiencia renal, hasta daños en el ADN induciendo mutagénesis (Peña-Martínez, 2014; INSST, 2018).

Hasta ahora, se han estudiado dos vías de degradación del PNF mediante bacterias en función de sus intermediarios. En la figura 1 se observa la vía de degradación del PNF a partir de PM, donde, mediante bacterias Gram negativas se le conoce como vía de la hidroquinona y mediante bacterias Gram positivas, la vía del hidroxiquinol.

En los últimos años se ha estudiado bacterias Gram negativas del género *Burkholderia* capaces de degradar PNF por ambas vías (Zhang *et al*, 2012; Castrejón-Godínez *et al.*, 2019).

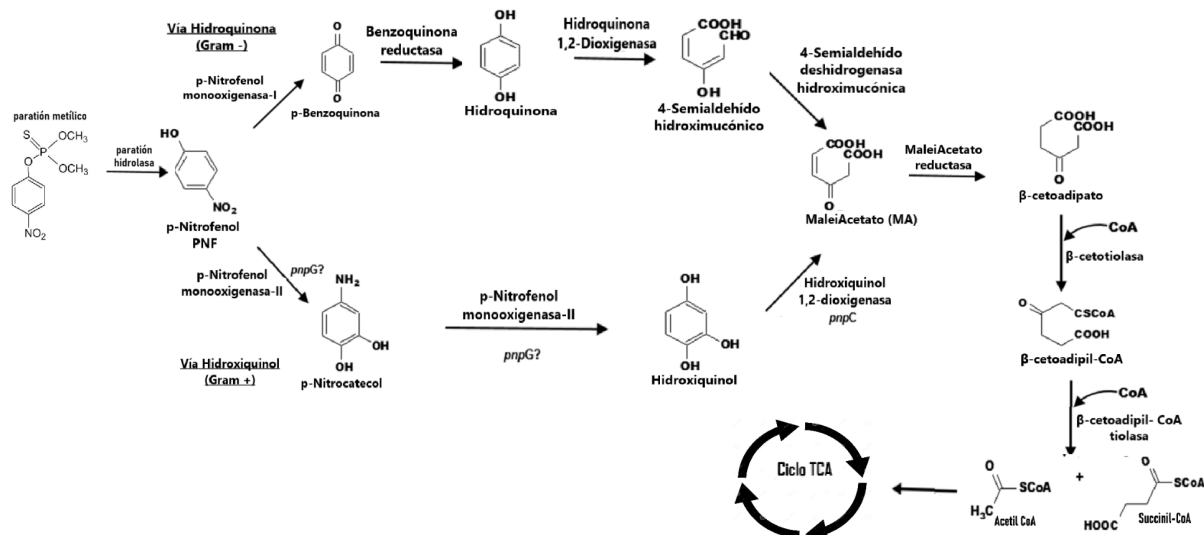


Figura 1. Vías oxidativas del PNF mediada por bacterias Gram negativas y Gram positivas. Tomado y modificado de Castrejón-Godínez *et al.*, 2019.

I.3 Contaminación puntual por plaguicidas

La contaminación puntual por plaguicidas está dada fundamentalmente por lavado inadecuado de tanques contenedores, filtraciones en los depósitos de almacenamiento y residuos descargados y dispuestos en el suelo, derrames accidentales en los sitios para preparar las mezclas agrícolas en el llenado de los equipos de aplicación (Castillo *et al.*, 2008; Del Puerto-Rodríguez *et al.*, 2014; FAO, 2016). Estos sitios suelen ser en campo, casas o bodegas donde hay remanentes de estas sustancias tóxicas, siendo un riesgo para la salud humana y el ambiente, como fuente de exposición. Se estima que entre el 50 y el 90% de los plaguicidas causantes de contaminación en fuentes hídricas provienen de fuentes puntuales (López-Barilllas, 2016).

El análisis de la contaminación por plaguicidas en sitios puntuales en México revela una situación preocupante, de acuerdo con el INECC (2019), se han identificado 125 sitios contaminados por plaguicidas en el país. Estos sitios incluyen agua superficial (56 sitios), agua subterránea (26 sitios) y suelo (43 sitios). Los sitios afectados se encuentran en 23 estados de la República Mexicana, donde los 10 estados con mayor número de áreas contaminadas por plaguicidas son: Campeche, Guerrero, Sinaloa, Chiapas, Sonora, Estado de México, Morelos, Coahuila, Guanajuato y Yucatán (Figura 2).

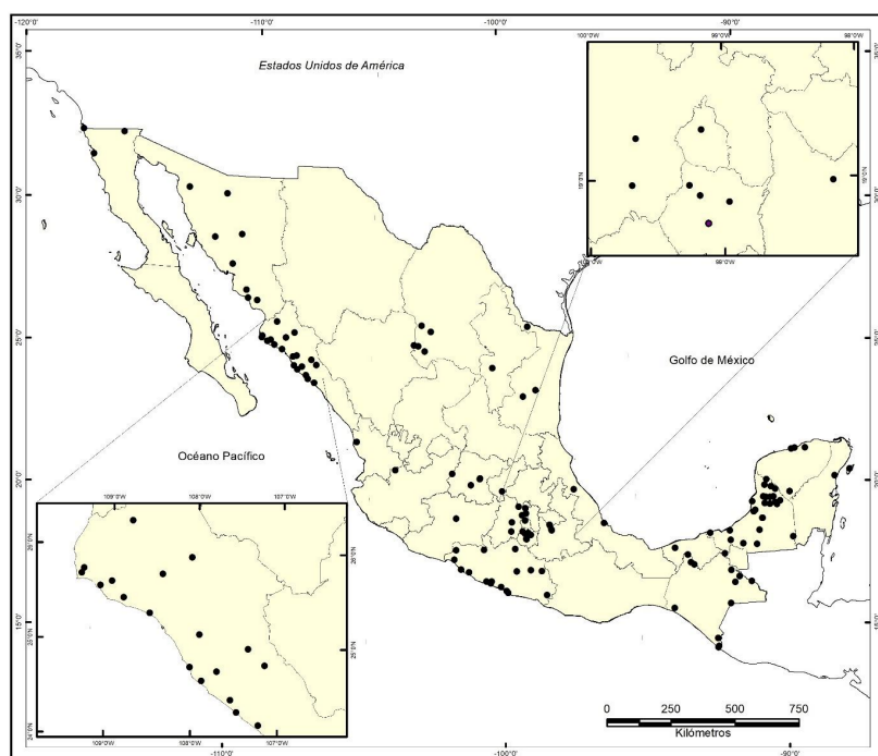


Figura 2. Localización de los sitios identificados en los que se reporta la presencia y niveles medidos de plaguicidas.

Derivado de ello, se emitió un programa Nacional de Remediación de sitios contaminados 2021-2024, el cual indica que la contaminación tiene costos económicos significativos, desde el punto de vista de la salud, la pérdida de productividad, costos en la atención médica y los daños en los ecosistemas (PNUMA, 2017). Se espera que los costos por la contaminación aumenten debido a los efectos a largo plazo que tienen sobre la salud humana, modificaciones en la forma de vida de las personas y pérdida en los servicios que brindan los ecosistemas.

Si bien estos impactos podrían disminuir bajo Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), especialmente con el Buen Uso y Manejo de Plaguicidas, desafortunadamente a los productores les resulta poco atractivo, a menos que sus productos sean de exportación. Esta situación es preocupante, ya que los pequeños y medianos productores que representan en México aproximadamente el 85% de trabajadores agrícolas, y junto con sus familias, son quienes producen la mayor parte de los alimentos y, quienes se ven más afectados por los costos en salud por dicha actividad, al mismo tiempo el ambiente y específicamente el suelo, se ve comprometido disminuyendo sus servicios ambientales (Ortíz, *et al.*, 2014; Ordoñez-Beltrán *et al.*, 2019).

I.4 Biorremediación

Las tecnologías de remediación representan una opción viable para controlar la contaminación por productos químicos tóxicos utilizados en diferentes actividades. La remediación es un conjunto de medidas a las que se someten los sitios contaminados para eliminar o reducir los contaminantes hasta un nivel seguro para la salud y el ambiente o prevenir su dispersión en el ambiente sin modificarlos (LGPGIR, 2023).

Entre las diferentes tecnologías de remediación existe aquella que aprovecha la capacidad de la naturaleza para transformar contaminantes, modificando las condiciones para favorecer los procesos de biodegradación, utilizando procesos fisicoquímicos, plantas y/o microorganismos, ya sea bacterias, hongos o levaduras para convertir o degradar los productos químicos tóxicos en compuestos menos tóxicos o no tóxicos, conocida como biorremediación (Singh, 2017; Dar *et al.*, 2020).

En general los costos de operación en la biorremediación son bajos y otra de sus ventajas en comparación con métodos fisicoquímicos es que no se generan residuos secundarios (Sun *et al.*, 2017). La biorremediación se puede clasificar de acuerdo con la estrategia utilizada, de acuerdo con el sitio de contaminación podría realizarse *in situ*, es decir, allí mismo, o *ex situ*, donde la matriz contaminada se transfiere a otro lugar para su tratamiento (Dzionic *et al.*, 2016). A su vez, *in situ* se puede llevar la degradación de manera natural, por adición de aire (bioventeo), nutrientes o modificando factores del medio para que los microorganismos trabajen en una escala óptima, lo cual se conoce como bioestimulación, o por bioaumentación que es la adición de microorganismos con capacidad de degradar compuestos específicos, buscando optimizar el proceso de remediación (Cota-Ruiz *et al.*, 2019).

Los plaguicidas en el suelo y el agua pueden ser degradados por vía biótica y abiótica; sin embargo, la biorremediación por microorganismos es el principal mecanismo de degradación de plaguicidas y de descontaminación de suelos (Hernández-Ruiz *et al.*, 2017). Los principales microorganismos que emplea la biorremediación son las bacterias, siendo el grupo de mayor estudio, debido a su potencial metabólico para degradar plaguicidas; se consideran como una alternativa que ayude a la disminución de sus niveles en el ambiente. En especial este grupo posee habilidades para detoxificar, mineralizar, transformar o inmovilizar los contaminantes (Tropel y Vander Der Meer, 2004). En 1973 se describieron las primeras bacterias con la capacidad de degradar compuestos organofosforados (OF)

cuando la cepa *Flavobacterium* sp. fue aislada de un campo de arroz en Filipinas (Sethunathan y Yoshida, 1973; Singh, 2009).

Entre las bacterias conocidas para degradar PM se conoce que *Serratia marcescens* trabaja mejor en suelo arenoso, y *Acinetobacter radioresistens* que degrada el 100% (1.2 g/L) cuando se suplementa con fosfato y urea (Hernández-Ruiz *et al.*, 2017). Liu *et al.*, (2007) demostraron que *A. radioresistens* incrementó del 20 al 90% la eficiencia de degradación de PM con el aumento de pH de 5.0 a 8.0.

Por otro lado, las bacterias descritas para la degradación de PNF por diversos organismos tanto en condiciones aerobias como anaerobias, han ido en aumento, encontrando que géneros como *Moraxella* G21, *Protophormiae*, y especies como *Pseudomonas putida*, *Sphingomonas* sp., *Corynebacterium* sp., logran la mineralización del tóxico, liberando nitrito o CO₂ (Tchieno y Tonle; 2018). En México, Popoca-Ursino en 2012, encontró que la cepa *Burkholderia cenocepacia* CEIB S5-2 aislada de un suelo agrícola de Morelos, realiza la hidrólisis tanto del PM como de su metabolito principal, PNF, en un periodo de 12 h.

I.4.1 Biorremediación de plaguicidas a través del sistema de camas biológicas o “biobeds”

Entre los sistemas de biorremediación se encuentran las *biobeds* o camas biológicas, las cuales surgieron en Suecia en los años noventa como una respuesta a la necesidad de encontrar un sistema sencillo y efectivo para minimizar la contaminación por plaguicidas especialmente durante el llenado de los equipos de aspersión, un ejemplo típico de contaminación puntual (Torstensson y Castillo, 1997; Torstensson, 2000).

A pesar de que el sistema de cama biológica tiene un enfoque preventivo (bioprofilaxis), los procesos de degradación se pueden replicar en suelos contaminados para reducir la concentración de plaguicidas (CropLife, 2017). El diseño original consiste en una excavación en el suelo con una capa de arcilla en el fondo, una biomezcla y una capa de pasto en la superficie (Figura 3).

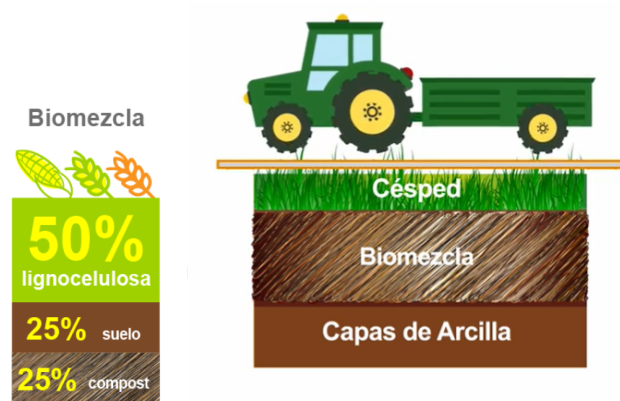


Figura 3. Diagrama de una cama biológica (CropLife, 2017)

La biomezcla tradicional está compuesta por paja de trigo, suelo y turba en una proporción de 50-25-25% en volumen. La paja estimula la actividad de hongos ligninolíticos (hongos de pudrición blanca) y la formación de enzimas degradadoras de lignina (manganeso peroxidasa, lignina peroxidasa y lacasas), que también degradan plaguicidas. Otros estudios demuestran que, en general, puede utilizarse cualquier material rico en ligno-celulosa, como paja de trigo, maíz, mijo, cascarilla de avena y arroz, residuos de uva, de algodón, de jardín y, fibra de coco, excepto madera y material verde (ramas) (Castillo y Torstensson, 2007; Coppola *et al.*, 2007; Castillo *et al.*, 2008; Mussali-Galante, *et al.*, 2023). Aunque los microorganismos presentes en la biomezcla funcionan para la degradación de plaguicidas, existen estudios donde la adición de microorganismos específicos (bioaumentación) en la biomezcla ha aumentado la tasa inicial de degradación (Karanasios *et al.*, 2010; Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2012).

El suelo provee de capacidad de retención de otros componentes como: contaminantes orgánicos, incluidos los plaguicidas, mediante adsorción en partículas de arcilla y materia orgánica; nutrientes, como fósforo, nitrógeno y carbono, necesarios para el metabolismo microbiano, y es fuente de otros microorganismos degradadores de plaguicidas. Lo ideal es que contenga humus y arcilla, sin ser demasiado este último, para evitar que la biomezcla no se homogenice adecuadamente y/o que la arcilla secuestre el plaguicida y evite su degradación (Centro Regional de Investigación Carillanca, 2013; CropLife, 2017). La turba, puede reemplazarse por abono orgánico, otorga capacidad de adsorción, contribuye a la retención de humedad en la mezcla, favorece la degradación abiótica de los plaguicidas y contribuye a la disminución del pH de la biomezcla (Karanasios *et al.*, 2012; Serpa-Vázquez, 2022). La capa de pasto o cobertura vegetal en la superficie, es importante para el equilibrio

de la humedad y sirve asimismo como indicador de derrames de plaguicidas (Torstensson y Castillo, 1997; Castillo *et al.*, 2008). La capa de arcilla al fondo de la cama biológica actúa como una capa impermeable; o siendo un sistema abierto se puede contar con un drenaje en caso de derrames que provoquen lixiviación (Figura 4).

El recambio de la biomezcla se sugiere sea de cinco a seis años en regiones templadas, y de 6 meses a 2 años en climas tropicales, compostando durante un año la biomezcla retirada y pudiendo utilizar una parte como inóculo en la nueva cama biológica (Torstensson, 2000; Karanasios *et al.*, 2012).

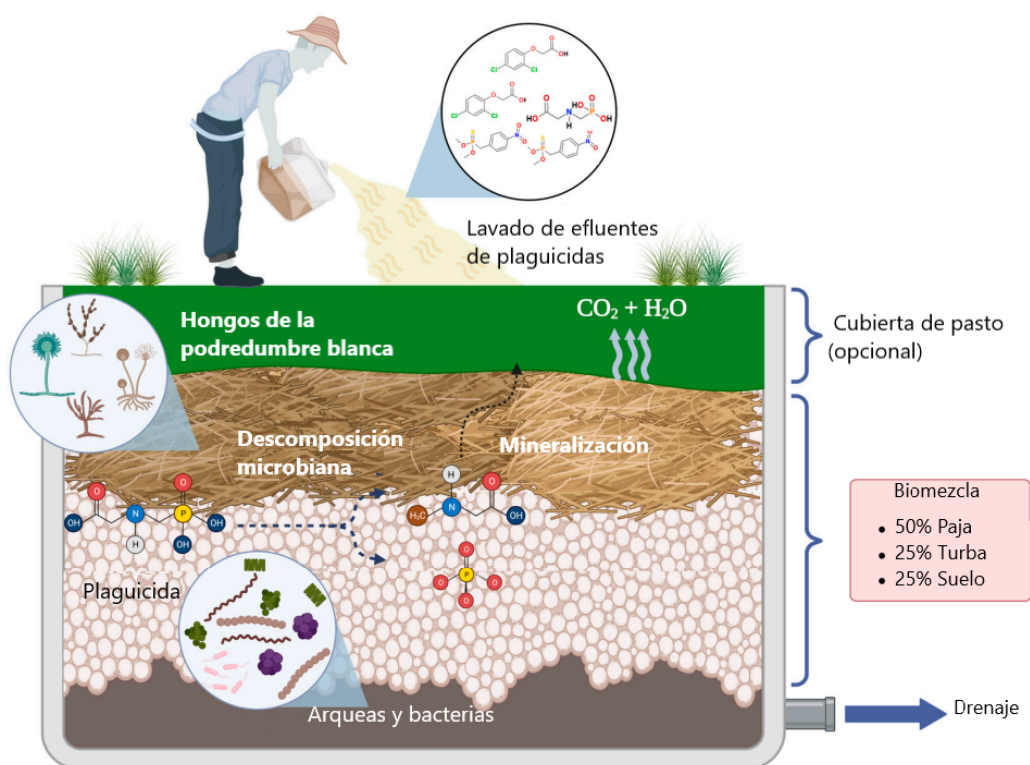


Figura 4. funcionalidad de la cama biológica. (Tomado y modificado de Mussali-Galante *et al.*, 2023).

En la Unión Europea existen alrededor de 9,000 sistemas de cama biológica instalados, en su mayoría en Suecia, Francia y el Reino Unido, mientras que en Latinoamérica existen 3,000 camas biológicas instaladas en Guatemala (Biobeds.org, consultado en abril de 2024). El diseño ha evolucionado de acuerdo con las condiciones climáticas, los materiales disponibles y las necesidades de los productores en estos países (Figura 5).



Figura 5. Diseños de camas biológicas en países europeos y en Guatemala

De acuerdo con una revisión de Mussali-Galante y colaboradores (2023) sobre camas biológicas en los últimos cinco años, se resalta que no hay estudios sobre la degradación de PM, lo cual es importante, ya que este plaguicida aún se utiliza para el control de insectos en diversas regiones del mundo, incluido México.

II. ANTECEDENTES

El sistema de cama biológica se desarrolló en Suecia en la década de los noventa por Torstensson y Castillo (1997). Estos sistemas biológicos fueron propuestos para el tratamiento de efluentes residuales derivados de las operaciones para la preparación de los plaguicidas, la aplicación y limpieza de los equipos involucrados en estas actividades durante las prácticas agrícolas, con la finalidad de evitar que estos efluentes residuales, con elevadas concentraciones de plaguicidas, se viertan directamente al ambiente, generando problemas de contaminación puntual (Mussali-Galante *et al.*, 2023).

De forma general el sistema de cama biológica tiene un diseño sencillo, basado en la capacidad de degradación de plaguicidas de microorganismos establecidos sobre una biomezcla generada con suelo (25%), turba (25%) y paja de trigo (50%). Sin embargo, los materiales que componen la biomezcla pueden sustituirse por otros de fácil acceso en la región de estudio; por lo que diferentes materiales lignocelulósicos se han propuesto como sustitutos de la paja de trigo, así como composta y biocarbón como sustitutos de la turba, y el suelo con las características de la región (Karanasios *et al.*, 2010; Diez *et al.*, 2013; Urrutia *et al.*, 2013; Gao *et al.*, 2015).

Los sistemas de camas biológicas se han aplicado de forma exitosa en Europa, y en los últimos 10 años estos sistemas han tomado relevancia en el contexto de América Latina (Días *et al.*, 2020). En el contexto de México, los sistemas de cama biológica se han implementado únicamente de forma experimental como se resume en la tabla 1.

Tabla 1. Investigaciones sobre camas biológicas en México

Autor	Biomezcla	Condiciones	Plaguicida	Porcentaje de degradación y tiempo
Góngora-Echeverría <i>et al.</i> , 2018	11 biomezclas Fibras de sisal, rastrojo de maíz , algas marinas, compost:suelo	$29.6 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y humedad de $58.5 \pm 5.8\%$	Mezcla de 2,4-D atrazina carbofurán diazinón glifosato	99% En 41 días
Góngora-Echeverría <i>et al.</i> , 2020	Consorcio microbiano aislado de suelo:paja 1:1 v/v	Medio líquido M9	Mezcla de 2,4-D atrazina carbofurán glifosato diazinón	90% 15 días
Córdova-Méndez <i>et al.</i> , 2021	Suelo y rastrojo de maíz 50:50	35 y 45°C 90% Humedad	Mezcla de carbofuran atrazina 2,4-D diazinón glifosato	99% 14 días

Góngora-Echeverría y colaboradores (2018), realizaron un estudio en Yucatán, en donde evaluaron diversos materiales disponibles en la zona, residuos de maíz, fibra de sisal, composta y algas marinas, para la preparación de la biomezcla de sistemas de camas biológicas, para la degradación de una mezcla de plaguicidas más utilizados en Yucatán (2,4-D, atrazina, carbofuran, diazinón y glifosato) encontrando una degradación del 99% para las diferentes biomezclas después de 41 días.

En 2020 Góngora-Echeverría y colaboradores reportaron una variación al sistema al colectar de una biomezcla de suelo y paja 1:1 v/v un consorcio microbiano el cual aislaron para colocar en un medio líquido y probar en el mismo una mezcla de plaguicidas, lo que dio como resultado una degradación de 80% en general a los 15 días.

Observaciones más puntuales sobre la temperatura la realizaron Córdova-Méndez y colaboradores (2021) reportaron que a 45°C se alcanzó una tasa de disipación del 99% debido a que hay una mejor actividad bacteriana promotora de la degradación de insecticidas como carbofurán y diazinón, y de tres herbicidas: atrazina, 2,4-D y glifosato.

En cuanto a los materiales ligninolíticos, empleados para la elaboración de la biomezcla de sistemas de cama biológica, se ha reportado que los residuos agroindustriales como el rastrojo de maíz, la paja de trigo y cáscara de arroz son, los más utilizados a nivel internacional en la elaboración de camas biológicas. Asimismo, los residuos agroindustriales más generados en México son: rastrojo de maíz, paja de trigo, esquilmo de sorgo y paja de cebada. Por lo que, en función de su composición química y disponibilidad se han propuesto como residuos con potencial para la generación de biomezclas para sistemas de cama biológica en México (Quiroz-Medina, 2021).

En México existen algunos estudios de biorremediación bajo diversas técnicas y, con microorganismos nativos para degradar organofosforados; sin embargo, en específico para PM y PNF bajo el sistema de cama biológica no hay reportes hasta el momento. No obstante se conoce que la degradación del PM por medio de hidrólisis enzimática se puede realizar mediante la enzima fosfotriesterasa (E.C. 3.1.8.1), para dar lugar a la liberación de PNF (Hernández-Ruiz *et al.*, 2017), un metabolito con gran toxicidad sobre la microbiota del suelo. Hasta el momento se tiene conocimiento de pocas especies bacterianas que puedan degradarlo al punto de mineralización (Gama-Martínez, 2019).

En la Tabla 2 se muestran a los microorganismos aerobios que se conocen hasta el momento, capaces de degradar el PNF hasta intermediarios del ciclo del ácido tricarboxílico (TCA), y lograr su mineralización.

I.4.2 Factores que afectan la biodegradación en el sistema de cama biológica.

El volumen para tratar en la cama biológica. Para un funcionamiento óptimo se debe estructurar la cama biológica con base en el objetivo, por ejemplo 1) si solo se quiere utilizar para tratar derrames accidentales durante el llenado de equipos con plaguicidas, o 2) para el tratamiento de volúmenes mayores de efluentes derivados del enjuague de equipos y de envases, ya que el aumento de la carga de efluentes aumenta el riesgo de lixiviación (Omirou *et al.*, 2012). Así mismo, las condiciones climáticas y el tipo de materiales usados en la biomezcla pueden afectar la retención de agua. De igual manera, el tipo de plaguicida es un factor a tener en cuenta, ya que existen plaguicidas altamente móviles y aquellos que se fijan mejor a las partículas de suelo, como los organofosforados.

Volumen. Las recomendaciones existentes respecto a los volúmenes son las siguientes:

En Guatemala se calcula que se puede tratar un volumen igual a la mitad del volumen de la cama biológica, es decir: profundidad (0.6 m) x ancho (m) x largo (m)= volumen a tratar (m³)/2. En Inglaterra la recomendación es 1 m² de superficie por 1,000 litros en una cama biológica de 1 m de profundidad, donde el volumen máximo permitido es de 15,000 litros por año por cama biológica (CropLife, 2017).

Biomezcla. La composición de la biomezcla es un factor clave en la eficiencia de degradación de plaguicidas dentro de la cama biológica, cada elemento (paja, suelo y composta) aporta nutrientes esenciales para el crecimiento de hongos y bacterias, estimulando la producción de enzimas ligninolíticas, como lacasas y peroxidasas, reportadas como altamente eficientes en la degradación de diferentes plaguicidas (Saez *et al.*, 2018). La composta brinda porosidad, haciendo que aumente la retención de plaguicidas en el sistema de camas biológicas, regula la humedad y reduce el pH, factores que favorecen la disipación de plaguicidas (Castillo y Torstensson, 2007; Karanasios *et al.*, 2012).

Microorganismos. Las comunidades de hongos y bacterias que colonizan la biomezcla son las responsables de la degradación de plaguicidas dentro de la cama biológica. Los microorganismos utilizan las moléculas de plaguicidas como fuentes de carbono, nitrógeno, fósforo y de energía para su crecimiento. La degradación eficiente de plaguicidas por microorganismos está relacionada con su gran plasticidad genética, la producción de diversas enzimas degradadoras de plaguicidas, su rápido crecimiento y su adaptabilidad para vivir en ambientes contaminados (Briceño *et al.*, 2018). Las bacterias actúan en conjunto con los hongos para mejorar la degradación de los plaguicidas y sus metabolitos derivados, produciendo diferentes enzimas degradadoras de plaguicidas, como deshalogenasas,

hidrolasas, oxidorreductasas, oxigenasas y esterases (Ortiz-Hernández *et al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2019).

Estudios recientes han evaluado la complejidad de la diversidad bacteriana que puede existir en una cama biológica. Bergsveinson y colaboradores (2018), a través de un enfoque metagenómico identificaron alrededor de 440 géneros bacterianos en cuatro sistemas de camas biológicas empleadas para tratar enjuagues de plaguicidas con composición y concentraciones diferentes. Góngora-Echeverría y colaboradores (2018) identificaron varias especies de arqueas (23), bacterias (598) y hongos (64) en sistemas de camas biológicas a escala de laboratorio, en presencia de una mezcla de plaguicidas comerciales (2,4-D, atrazina, carbofuran, diazinón y glifosato).

Parámetros fisicoquímicos. Entre los parámetros clave a tomar en cuenta al establecer una cama biológica se encuentra el tiempo de maceración de la biomezcla, la humedad, la temperatura y la concentración del plaguicida en el sistema. Fernández-Alberti y colaboradores (2012) encontraron que, a los 15 días de reposo de la biomezcla con una humedad de 60%, es que el insecticida clorpirifos se degradó arriba de un 70%. Por su parte, Tortella y colaboradores (2012) para el mismo insecticida, encontraron que la madurez de la biomezcla no influyó en su degradación (50%), sin embargo, el aumento de la concentración redujo la eficiencia de degradación. En cuanto a la temperatura, Córdova-Méndez y colaboradores (2021) observaron que la degradación de dos fungicidas y tres insecticidas fue mejor a 35 y 45°C, ya que en estas temperaturas la actividad microbiana fue más alta.

Por lo que al establecer una cama biológica es necesario tener conocimiento de la zona para poder acondicionarla lo mejor posible para el tipo de plaguicidas que se desea remediar y contemplando los materiales disponibles en la zona.

Tabla 2. Microorganismos aerobios degradadores de PNF.

Microorganismo	Vía de degradación	Referencia
Actinomicetos	Mineralización a CO ₂	Herman y Costerton, 1993
Moraxella G21	Mineralización completa	Errampalli <i>et al.</i> , 1999
<i>Arthrobacter protophormiae</i> , <i>Burkholderia cepacia</i>	HQ	Bhushan <i>et al.</i> , 2000
<i>Protophormiae</i>	Degradación completa en suelo	Labana <i>et al.</i> , 2005a
<i>Protophormiae</i>	Degradación completa en microcosmos del suelo	Labana <i>et al.</i> , 2005b
<i>Pseudomonas</i> WBC-3	Degradación completa de PNF	Lieu <i>et al.</i> , 2005
<i>Burkholderia</i> sp.	BT hasta ciclo de TCA	Chauhan <i>et al.</i> , 2010
<i>Burkholderia cenocepacia</i> CEIB S5-2	Degradación completa	Martínez-Ocampo <i>et al.</i> , 2016

BT: Hidroxiquinol HQ: Hidroquinona

Existen hasta la fecha pocos reportes de microorganismos capaces de degradar o mineralizar completamente el PNF; existen algunos, como *Burkholderia* sp., que son capaces de incluirlo en la respiración celular y utilizarlo como fuente de nutrientes (Tchieno y Tonle; 2018). Tal es el caso de *B. cenocepacia* CEIB S5-2, aislada de un suelo agrícola de Morelos. Se encontró que esta cepa realiza la hidrólisis del PM y degrada al metabolito principal el PNF en un periodo de 12 horas (Martínez-Ocampo, 2016; Fernández-López *et al.*, 2017;

Gama-Martínez, 2019). Así mismo, se ha caracterizado a nivel del genoma y transcriptoma a las cepas expuestas a PM en los últimos años lo cual ha permitido analizar los posibles genes involucrados en las reacciones de degradación (Castrejón-Godínez et al., 2019; Ortiz-Hernández et al., 2021).

Por otro lado, Fernández-López y cols. en 2017 reportaron el aumento de la eficiencia de degradación de PM y de PNF con la cepa *B. cenocepacia* CEIB S5-2 inmovilizada en tres soportes diferentes (fibra de agave, fibra de nopal y zeolita en polvo), con respecto al cultivo celular libre. Encontrando en esta última condición que a concentraciones superiores a 25 mg/L, la viabilidad bacteriana se veía afectada; por el contrario, las células inmovilizadas degradaron completamente el PNF a concentraciones de hasta 100 mg/L. Con base en este antecedente se tomó como punto de partida las concentraciones de PNF para este proyecto, esperando que la biomezcla pueda servir de soporte para la cepa y permita la degradación eficiente de este compuesto.

III. JUSTIFICACIÓN

La falta de aplicación de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y del Buen Uso y Manejo de Plaguicidas ante el uso de organofosforados, como el Paratión Metílico ha ocasionado que la acumulación de su metabolito *p*-nitrofenol en el suelo afecte a las comunidades microbianas en sitios puntuales de contaminación. En México, se tiene registro de que el PM es el insecticida de mayor uso; así mismo, el estado de Morelos se encuentra dentro de los primeros 10 sitios registrados con contaminación puntual por plaguicidas, identificados por el INECC. Por lo que, la aplicación de un sistema de cama biológica se presenta como una alternativa, económica, de fácil operación y adaptable a la región. además, este sistema cuenta con pocos estudios en México; por lo que, la adición a la biomezcla de la bacteria *B. cenocepacia* CEIB S5-2, caracterizada como eficiente en la degradación de PNF, puede ser una opción para tratar los efluentes del PM utilizado en la agricultura y sobre todo del PNF mitigando así el impacto de la contaminación al ambiente y la salud humana.

IV. HIPÓTESIS

Debido a que la cepa *B. cenocepacia* CEIB S5-2 presenta la capacidad de hidrolizar eficientemente el plaguicida paratión metílico y degradar completamente el *p*-nitrofenol, la bioaumentación de un sistema de cama biológica con esta cepa permitirá mejorar la eficiencia de degradación del *p*-nitrofenol con respecto a un sistema no bioaumentado.

V. OBJETIVOS

V.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la eficiencia del sistema de cama biológica bioaumentado con la cepa de *B. cenocepacia* CEIB S5-2 en la degradación de *p*-nitrofenol

V.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar fisicoquímicamente los materiales de la biomezcla (suelo y composta).
2. Determinar los porcentajes de degradación de *p*-nitrofenol en un sistema cama biológica aumentado con *B. cenocepacia* CEIB S5-2.
3. Establecer las condiciones y parámetros de operación de las camas biológicas que permitan obtener los mayores porcentajes de degradación de *p*-nitrofenol.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VI.1 Muestreo de suelo, obtención de composta y paja

La muestra de suelo fue colectada en una parcela agrícola en el estado de Morelos, en el paraje denominado “La Joya”, en la localidad de El Higuerón, municipio de Jojutla de Juárez, Morelos (18.555374, -99.197087) (Figura 6), con un tipo de suelo vertisol, representativo del estado y de la actividad agrícola en México, el cual se caracteriza por su alto contenido de arcilla expansiva, que se contrae en época de secas, siendo suelos productivos y de buena fertilidad (SEMARNAT, 2012). Se consideró que la parcela agrícola no hubiera tenido aplicación de agroquímicos en los últimos dos años, lo cual fue confirmado en entrevista con el productor, quien es miembro del programa sembrando vida, el cual, uno de los requisitos es el no uso de agroquímicos.

La muestra de suelo se obtuvo en una superficie de 1.5 hectáreas, con base en la NOM-021-RECNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudios, muestreo y análisis. Se descartaron las orillas, los puntos de reciente fertilización y la parte superficial del suelo. Se tomaron en cinco de oros, muestras de aproximadamente 1 kg a una profundidad de 0 a 20 cm, estas se homogeneizaron en campo para formar una muestra compuesta y, por regla del cuarteo se fue descartando hasta conseguir una muestra de 5 kg de peso, la cual se utilizó tanto para análisis, como para la biomezcla del sistema de camas biológicas.

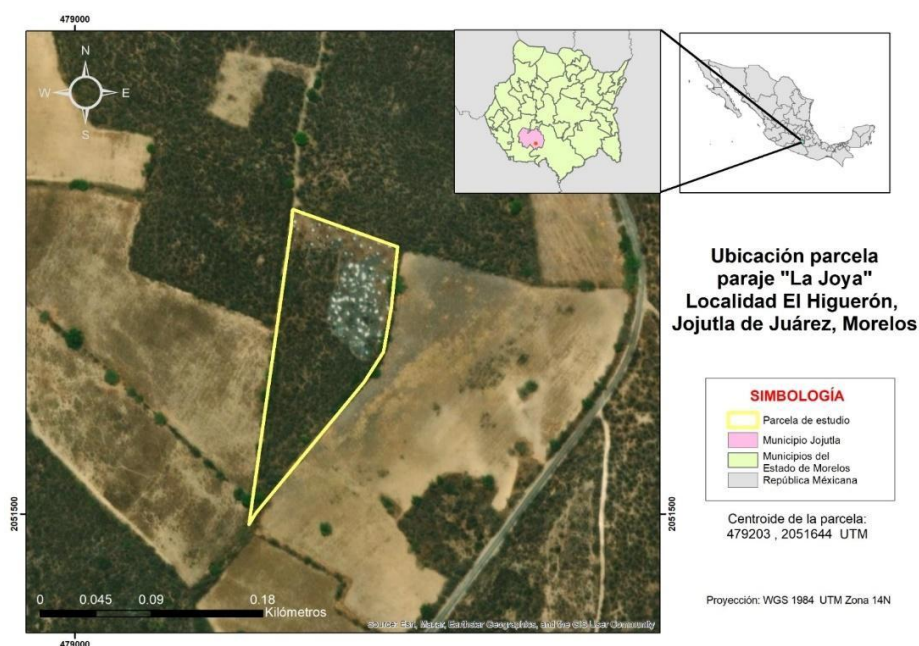


Figura 6. Ubicación de la parcela agrícola “La Joya” en el municipio de Jojutla de Juárez, Morelos.

Se adquirieron 5 kg de composta con la empresa “Tierra de Urbe”, dedicada al composteo de residuos urbanos de jardín de manera estandarizada; esta empresa se localiza en Cuernavaca, Morelos. En la composta se analizaron los parámetros de pH, densidad aparente, nitrógeno total, fósforo, potasio, calcio, y magnesio extraíble, así como el porcentaje de materia orgánica, mediante la norma mexicana NMX-AA-180-SCFI-2018, que establece los métodos y procedimientos para el tratamiento aerobio de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (RSU) y residuos de manejo especial (RME), así como la información comercial y de sus parámetros de calidad de los productos finales, y bajo la norma técnica estatal NTEA-006-SMA-RS-2006, que establece los requisitos para la producción de los mejoradores de suelos elaborados a partir de residuos orgánicos. Los análisis para la caracterización de suelo y composta se realizaron en colaboración con el laboratorio de la Dirección General de la Comisión de Recursos Naturales y Desarrollo Rural (DGCORENADR) de la Ciudad de México.

La paja de trigo se obtuvo de una forrajera local del estado de Morelos. Se seleccionó con base en un análisis de los principales residuos agroindustriales disponibles en México y su potencial de aplicación en camas biológicas para el tratamiento de plaguicidas, además de que es el residuo originalmente caracterizado para el sistema de camas biológicas.

VI.2 Preparación de la biomezcla y establecimiento de las variables de operación del sistema de camas biológicas.

La paja se trituró con un molino para obtener partículas de 1 a 2 cm de tamaño, el suelo y la composta se tamizaron con un tamiz No. 10 con malla de 2 mm. Para realizar la biomezcla se utilizó una proporción de 50:25:25 de paja, suelo y composta respectivamente (Figura 7). La biomezcla se homogeneizó con agua destilada hasta alcanzar entre 60-70% de humedad.

Se colocaron 50 g de biomezcla, en frascos de vidrio con capacidad de 110 ml, los cuales se envolvieron en papel aluminio, para mantenerlas bajo condiciones de oscuridad, para evitar la fotodegradación del PNF y mantener la cepa *B. cenocepacia* CEIB S5-2. La biomezcla se mantuvo entre 70-80% de humedad, con un pH neutro a medianamente alcalino (7.0-8.4), registrado al inicio y al final del experimento.

El microcosmos con la biomezcla se sometió a esterilización en autoclave (121°C por 15 minutos) en cinco ocasiones, dejando llegar a temperatura ambiente entre cada ciclo, posteriormente se incubó durante 15 a 20 días a 30°C.



Figura 7. Composición del microcosmos utilizado para el sistema de camas biológicas.

VI.3 Obtención y determinación del tamaño de inóculo de *B. cenocepacia* CEIB S5-2

La cepa *B. cenocepacia* CEIB S5-2 utilizada en este trabajo fue aislada previamente de suelo agrícola del estado de Morelos, donde se aplicaban plaguicidas OF. La cepa fue aislada y procesada para su adaptación en medio de sales minerales (MSM) y suplementado con PM (50 mg/L), después en cajas Petri, se aislaron colonias visibles presentaban halos amarillos a su alrededor (indicativos de hidrólisis de PM a PNF); la colonia que mostró mayor degradación tanto de PM como de PNF se identificó como S5-2 (Fernández-López *et al*, 2017), la cual ha sido conservada en el Laboratorio de Investigaciones Ambientales (LIA) del Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), del cual se obtuvo para este estudio.

La cepa CEIB S5-2 se obtuvo de un stock conservado en glicerol, el cual fue sembrado en cajas Petri con Agar Soya Trypticaseína (AST) suplementado con PM (50 mg/L). Después de 24 horas se colectó una colonia y se inoculó en un matraz Erlenmeyer de 500 mL con 250 mL de Caldo de Soya Trypticaseína (CST), el cual se colocó en agitación a 120 rpm, a 30°C, por 15 horas, con la finalidad de obtener el inóculo. Las células fueron cosechadas por centrifugación (10 minutos a 4,000 rpm) y lavadas dos veces con una solución de MSM descrita originalmente por O'Reilly y Crawford (1989), utilizado con la siguiente composición: 0.82 g/L K_2HPO_4 , 0.19 g/L KH_2PO_4 , 0.20 g/L $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 2.0 g/L KNO_3 , 0.99 g/L $(NH_4)_2SO_4$. Entre cada lavado las células se centrifugaron por 10 minutos a 4,000 rpm para colectar el pellet, posteriormente, se suspendió en MSM y se ajustó a una densidad óptica de 0.5 a 600 nm.

Para determinar el tamaño del inóculo, se realizaron diluciones seriadas. Con el inóculo ajustado a una D.O. de 0.5 a 600nm, se colocaron 100 μ L en un tubo Eppendorf de 1 ml con 900 μ L de agua destilada estéril siendo esta la dilución 10^{-1} . De esta dilución se tomaron 100 μ L y se colocaron en un tubo Eppendorf de 1 ml con 900 μ L de agua destilada estéril siendo esta la dilución 10^{-2} y así sucesivamente hasta la dilución 10^{-7} como se observa en la Figura 8. Posteriormente, en cajas Petri con AST, se cultivó con ayuda de un asa de vidrio las diluciones 10^{-4} a la 10^{-7} para obtener el número de colonias a las 24 y 48 horas. Se

tomó en cuenta el crecimiento en la placa correspondiente a la dilución 10^{-5} a las 24 horas, determinando que la concentración de UFC/mL de la cepa ajustada a D.O. de 0.5 600 nm fue de 1.6×10^6 UFC/mL. Este procedimiento se realizó por triplicado y en condiciones de esterilidad.

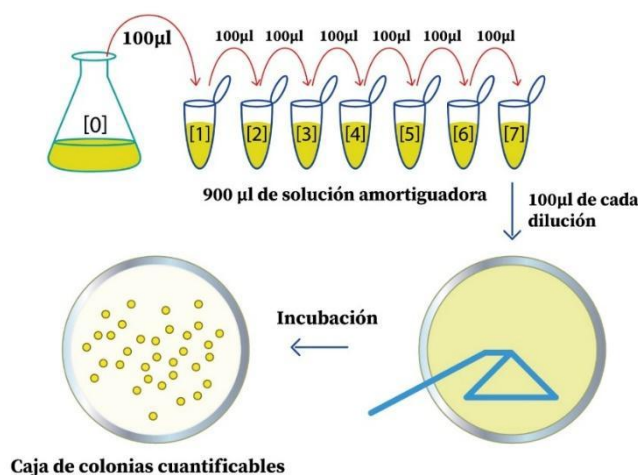


Figura 8. Técnica de recuento en placa para determinación de UFC/mL de la cepa de *B. cenocepacia* CEIB S5-2

VI.4 Establecimiento del sistema de camas biológicas para la degradación de PNF

Bajo condiciones de esterilidad y por triplicado, se colocó un tratamiento control, que consistió en el microcosmos estéril con un contenido de 50 g de biomezcla, adicionado con PNF a 25 y 50 mg/g; así como un tratamiento donde el microcosmos estéril se bioaumentó con la cepa *B. cenocepacia* CEIB S5-2 a una concentración de 1×10^5 UFC/g biomezcla, dejándola 72 horas en incubación para posteriormente suplementar con PNF a 25 y 50 mg/g (Figura 9). Partiendo de un stock a 10,000 mg /L de PNF se estableció que 125 µL y 250 µL se necesitan para lograr concentraciones de 25 y 50 mg/kg en las camas biológicas.

Tratamiento	Concentración de p-nitrofenol mg/g	
	25	50
Sistema Sin bioaumentación (Biomezcla)		
Sistema Bioaumentado (Biomezcla+ cepa CEIB S5-2)		

Figura 9. Diseño experimental del sistema de camas biológicas para degradación de PNF

VI.4.1 Cuantificación de la concentración de PNF en el sistema de camas biológicas

Para cuantificar los niveles residuales de PNF, se realizó la curva de calibración donde se realizaron inyecciones de diferentes concentraciones de PNF a 5, 10, 20, 50 mg/L, a través de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en el equipo Thermo Scientific Dionex Ultimate® 3000 con una columna cromatográfica Thermo Scientific Acclaim 120, C18, (5 μ m 4.6 $\times$ 150 mm) a una temperatura de 30°C. Se inyectó un volumen de muestra de 20 μ L, un flujo de fase móvil de 1.0 mL/min, constituida por una mezcla de metanol 30:70 y ácido acético 1% (1:3 v/v). La identificación y cuantificación se realizaron a una longitud de onda de 320 nm con un tiempo total de análisis de 25 minutos. El análisis de datos se realizó a través del software Chromeleon® © Dionex versión 7.2.3.7553, generando una regresión para conocer la relación de la concentración y el área bajo la curva del cromatograma integrado que emite el HPLC (Figura 10).

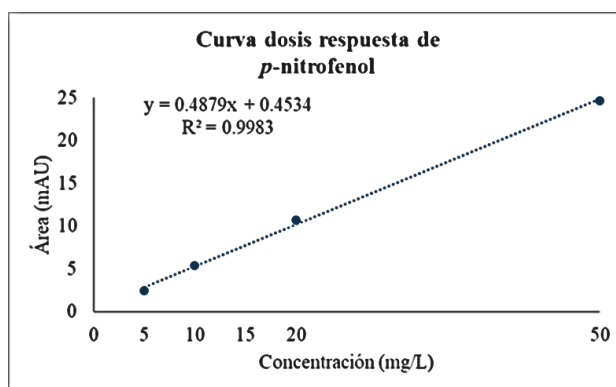


Figura 10. Curva de calibración de diferentes concentraciones de PNF, que indican el área bajo la curva obtenida mediante HPLC.

Con base en la metodología aplicada por Yáñez-Ocampo *et al.* (2011), Abdel-Razek *et al.* (2013) y Moreno-Medina *et al.* (2014) para la cuantificación del PNF, de la biomezcla se extrajo 1 g de muestra de ambos tratamientos (con y sin bioaumentación) a las concentraciones de 25 y 50 mg/g, tomando el tiempo 0 al momento de adicionar el PNF y cada 12 horas durante 96 horas, esto por triplicado. A la muestra se le adicionaron 3 mL de acetato de etilo como reactivo de extracción del PNF, llevando a agitación en un vortex por 2 minutos en tres ocasiones, posteriormente la primera fase obtenida se filtró en embudos empacados con fibra de vidrio y sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4), colectando el líquido en viales de color ámbar, los cuales se dejaron abiertos durante 24 horas para su evaporación. Posteriormente se le adicionó 1 mL de metanol grado HPLC.

La cuantificación del PNF se realizó a través del equipo HPLC, siguiendo el mismo proceso anteriormente descrito, donde se obtuvieron los cromatogramas integrados, de los cuales se analizó el tiempo de retención y el área bajo la curva, para realizar los cálculos de la concentración de PNF.

VI.5 Obtención de datos y análisis estadísticos.

Se realizaron pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk para conocer la distribución de los datos, con un nivel de significancia del 95% ($p \leq 0.05$). Derivado de ello, se aplicó la prueba no paramétrica de U Mann-Whitney para conocer si hay diferencias significativas entre tratamientos y por tiempo de muestreo, con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$). Se calculó la tasa de degradación (TD) para conocer la velocidad con la que se degrada el compuesto, con base en la siguiente fórmula:

$$TD = \frac{C_i - C_f}{t}$$

Donde: TD=Tasa de Degradación

C_i=Concentración inicial

C_f=Concentración final

t= Tiempo

Se realizó un modelo de regresión lineal para conocer la relación entre los porcentajes de degradación en los tiempos de muestreo. Así mismo, se realizó el modelo de cinética de primer orden, este modelo asume que la velocidad de degradación es proporcional a la concentración del contaminante en ese momento. Este modelo es utilizado en estudios sobre biodegradación de compuestos orgánicos (Pignatello *et al.*, 2006), calculado con base en la siguiente fórmula:

$$C(t) = C_0 * e^{-kt}$$

$$\text{Modelo lineal } \ln(C(t)) = \ln(C_0) - kt$$

Donde: C(t)= Concentración en el tiempo

C₀= Concentración inicial

k= velocidad de degradación

t= tiempo

Con esta información se obtuvo la vida media del PNF dentro del sistema de camas biológicas con base en la fórmula:

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k}$$

Donde: $t_{1/2}$ = vida media del compuesto

k= velocidad de degradación

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VII.1 Caracterización de los materiales de la biomezcla (suelo, composta y paja de trigo).

De acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000, se obtuvo un suelo franco arcilloso, medianamente alcalino (pH=8), con contenido medio de materia orgánica (2.05%), contenido alto de nitrógeno (0.31%) y calcio (12, 900 mg/kg) y contenido bajo de fósforo (5.25 mg/kg). La composta presentó niveles adecuados para pH (7.4), nitrógeno total (3.53%), y potasio (7.419 mg/kg), fósforo con niveles bajos (543 mg/kg), y contenido de materia orgánica alto (24.32%), de acuerdo con las normas NMX-AA-180-SCFI y NTEA-006-SMA-RS-2006 (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros obtenidos del análisis de suelo y composta

Matriz	Parámetros								M.O. %
	pH	D.A. g cm ³	N Total %	P extraíble mg/kg	K mg/kg	Ca mg/kg	Mg mg/kg	Textura %	
Suelo	8.0	1.24	0.31	5.25	200.6	12900	179.7	Arena 29.48 Limo 40.56 Arcilla 29.96	2.05
NOM-021-RECNAT-2000	Med. alcalino	Francos	Alto	Bajo	Adecuado	Alto	Medio	Franco arcilloso	Medio
Composta	7.4	0.65	3.53	543	7419	13270	2991	N/A	24.32
NMX-AA-180-SCFI-2018	Adecuado	NRN	Adecuado	Bajo	Adecuado	NRN	NRN		Alto

D.A.: Densidad Aparente, M.O. : Materia Orgánica, N/A: No aplica, NRN: No Reportado en la Norma

De acuerdo con lo descrito por López-Clemente *et al.*, (2015) y Toscano *et al.*, (2015) la paja de trigo es ligeramente ácida (pH 5.5–6.5), tiene un bajo contenido de nitrógeno (<1%), carbono fijo de 18.45%, un contenido de celulosa de 57%, hemicelulosa de 17% y lignina de 19%, y una relación C:N alta de 70:1 (Tabla 4).

Tabla 4. Características físicoquímicas de la paja de trigo.

Paja de trigo	Parámetros (valores promedio)			
	pH		Nitrógeno total: Bajo (<1%)	
	Ligeramente ácido (5.5–6.5)			
	Humedad 6.65%	Materia volátil 67.32%	Cenizas 7.48%	Carbono fijo 18.45%
	Celulosa 57%	Hemicelulosa 17%	Lignina 19%	C:N 70:1

Tomado de López-Clemente *et al.*, 2015 y Toscano *et al.*, 2015

Estos elementos conformaron la biomezcla empleada en el sistema de camas biológicas, compuesta por 50% paja de trigo, 25% suelo agrícola y 25% composta, con una humedad ajustada al 70%. El contenido de la materia orgánica (M.O.) en la biomezcla fue de 14.84% en base húmeda, resultado de la alta contribución de la paja de trigo (85.77% M.O. en base seca), en combinación con la composta (24.32%) y el suelo (2.05%). Este nivel de M.O. es considerado óptimo para procesos de biodegradación, ya que proporciona carbono fácilmente disponible para el metabolismo microbiano. De acuerdo con Acosta y Paolini (2006), la incorporación de residuos orgánicos incrementa significativamente la biomasa microbiana, lo que mejora la descomposición de contaminantes; además, la materia orgánica facilita la retención de contaminantes, como el PNF. Coppola *et al.* (2010) y Karas *et al.* (2016), han reportado mayor disipación de plaguicidas en biomezclas con contenido alto de materia orgánica (8.82–39.4%).

La relación C/N fue de 33.57 en base húmeda, la cual se encuentra en el rango ideal para mantener una actividad microbiana eficiente. Relaciones C/N entre 25 y 35 favorecen el crecimiento de bacterias heterótrofas sin provocar inmovilización de nitrógeno (INTA, 2020). Durante el proceso de degradación de residuos lignocelulósicos, la disponibilidad de nutrientes para la microbiota está ligada a la relación C/N, donde en un intervalo de 10 a 30, los microorganismos cuentan con carbono y nitrógeno suficiente para su mantenimiento. En este caso la biomezcla se encuentra dentro de este intervalo y aunque el contenido de nitrógeno es mayor, esto favorece en la maduración a la biomezcla, ya que el nitrógeno estará disponible para los microorganismos, lo que les permitirá descomponer el rastrojo más rápidamente (USDA, 2011). En una relación menor a 10, la actividad microbiana es aceptable debido al alto contenido de nitrógeno, que, aunque en exceso en un inicio, favorece la formación de proteínas y de enzimas degradadoras, como las fenoloxidasas (lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa, lacasas). Por otro lado, una relación mayor a 30 indica

exceso de carbono, lo que provoca un crecimiento microbiano lento, menor producción de enzimas y, por ende, degradación más lenta (Méndez-Matías *et al.*, 2018; CASAFE, 2020).

La densidad aparente estimada de la biomezcla es de aproximadamente 0.9 g/cm³, valor que, de acuerdo con la norma, indica buena porosidad y capacidad de retención de agua. Este valor en conjunto con la relación C/N en los residuos orgánicos de la biomezcla, funciona como indicador clave de la calidad y durabilidad de esta. Si bien el suelo mejora la capacidad de adsorción en las camas biológicas, se debe tener cuidado que el suelo no sea de clase textural arcillosa, arcillo limosa, o arcillo arenosa, ya que su alta capacidad de adsorción podría limitar la biodisponibilidad de los plaguicidas para los microorganismos (Pinto *et al.*, 2020; Díez Jerez, 2013; Fogg *et al.*, 2004). En general, la biomezcla presentó una estructura equilibrada que favorece la aireación, la movilidad de nutrientes y capacidad de retención de agua.

De acuerdo con Góngora-Echeverría *et al.*, (2018), el conjunto de los parámetros fisicoquímicos, como contenido de lignina, la capacidad de retención de agua (CRA), la materia orgánica y el pH, son importantes en la disolución de plaguicidas, siendo el pH el más significativo. En este caso, el pH estimado de la biomezcla sin bioaumentar se encontró entre 7.0 a 7.29, mientras que con la adición de la cepa CEIB S5-2 osciló entre 7.0 a 7.36, como resultado de la combinación de los componentes y la interacción microbiana.

Estos intervalos son favorables para la biodegradación de PNF. Estudios como el de Tempestti *et al.* (2023) reportan que el pH óptimo para la degradación de PNF por bacterias como *Enterococcus gallinarum* y *Burkholderia* spp. es cercano a 7. Además, *Burkholderia cenocepacia* CEIB S5-2 ha demostrado capacidad para degradar completamente el PNF en 21 horas bajo condiciones neutras (Martínez-Ocampo *et al.*, 2016). Así mismo algunos autores (Cooper *et al.*, 2016; Karas *et al.*, 2016; Pinto *et al.*, 2016) han reportado las mayores eficiencias en camas biológicas cuando presentan un pH alrededor de 7.

La caracterización fisicoquímica de los elementos que conforman la biomezcla es muy importante ya que de estos depende su eficiencia para degradar residuos de plaguicidas mediante los procesos abióticos (adsorción y degradación química) y bióticos (degradación microbiana) que ocurren en la biomezcla (Góngora-Echeverría *et al.*, 2018).

VII.2 Condiciones para el establecimiento del sistema de cama biológica.

Derivado de las pruebas previas, se determinó que el tamaño de microcosmos para 50 g de biomezcla fue un recipiente de vidrio de boca ancha, con un volumen de 110 mL cubierto con papel aluminio para evitar la fotodegradación del PNF. En la biomezcla se

registró un pH neutro (7.0-7.36), se ajustó la humedad entre 70-80%, a una temperatura de 30° C, condiciones donde el sistema promueve la degradación y el crecimiento de la cepa. Castillo y Torstenson (2007) reportan mayor disipación de plaguicidas a una humedad mayor al 60% y menor del 90%, considerando la movilidad de la partícula. Dado que el PM y el PNF son poco móviles en suelo, la humedad utilizada fue la adecuada para permitir la permanencia de la cepa y su interacción con la biomezcla, evitando lixiviación.

Por otro lado, Córdova- Méndez *et al.* (2021) probaron el sistema con rastrojo de maíz y suelo a diferente capacidad de retención de humedad desde el 20 al 100% y diferentes temperaturas (entre 5 a 45°C), concluyendo que la humedad no era un factor significativamente importante, y que a 45°C se logró el 99% de disipación de una mezcla de plaguicidas. Sin embargo, se debe considerar que cuando la humedad es excesiva, la proliferación bacteriana puede detenerse, no exactamente por el exceso de agua, sino porque tal exceso limita el intercambio gaseoso y disminuye el suministro de oxígeno disponible, creándose un ambiente anaerobio (López-Falcón, 2002). En el caso de las camas biológicas, este factor debe cuidarse desde el diseño y la ubicación de la cama, así como mediante la cobertura vegetal, que ayuda a regular los niveles de humedad en el sistema.

VII.3 Degradación de PNF en sistema de camas biológicas.

Para evaluar la eficiencia del sistema de camas biológicas en la degradación de PNF a una concentración de 25 y 50 mg/g, se realizó el análisis por cromatografía líquida de alta resolución (UHPLC), donde se obtuvo el área bajo la curva de la señal del PNF, con un tiempo de retención entre 18.9 y 20.2 minutos. Con base en la ecuación de la relación área-concentración previamente realizada (Figura 10), se obtuvieron los datos de concentración en función del tiempo de muestreo (0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 horas).

Para la concentración de 25 mg/g la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los datos no presentan una distribución normal ($W = 0.88962$, $p = 0.00013$; $p < 0.01$); por lo que, se aplicó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney, encontrando diferencias significativas entre los tratamientos ($U = 198$, $p = 0.003971$; $p < 0.01$), a partir de las 36 y hasta las 60 horas donde se observa el efecto de la bioaugmentación (Figura 11).

Los porcentajes de degradación fueron calculados con las medianas de concentración para cada tiempo de muestreo. El tratamiento con bioaugmentación (PNF25 + Bc) presentó una mayor eficiencia, con tasas máximas de degradación de 0.460 mg/g·h a las 24 horas y 0.580 mg/g·h a las 36 horas, en comparación con el tratamiento sin bioaugmentación (PNF25), que mostró tasas de 0.438 mg/g·h y 0.287 mg/g·h, respectivamente. Con estas tasas, el

tratamiento con bioaumentación alcanzó el 97% de degradación a las 48 horas y el 100% a las 60 horas, en comparación con el tratamiento sin bioaumentación que alcanzó el 45% y 61%, respectivamente, en el mismo tiempo, sin lograr la degradación completa en el tiempo del muestreo, evidenciando una mayor actividad metabólica en el sistema bioaumentado.

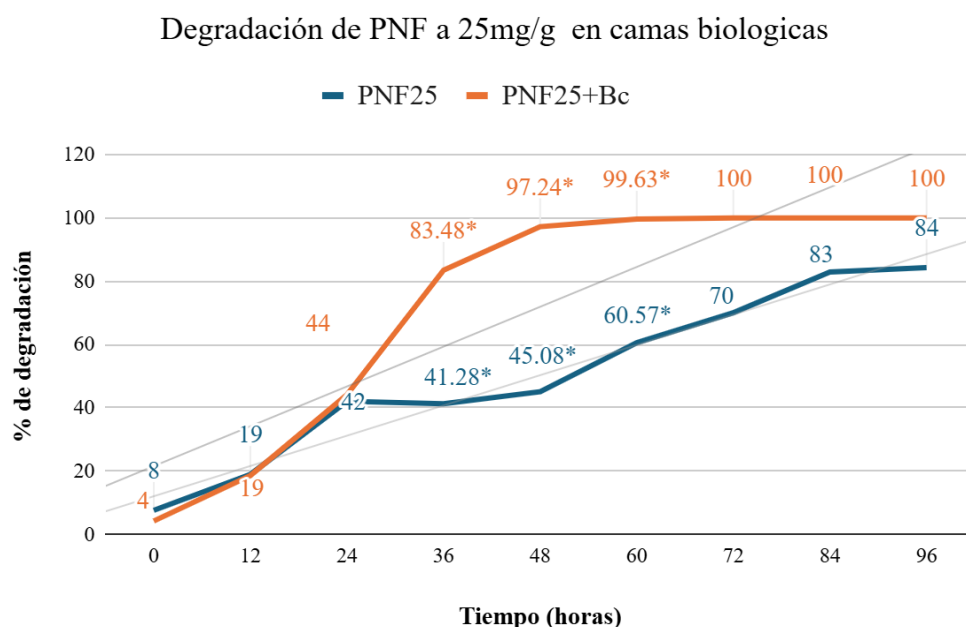


Figura 11. Porcentajes de degradación de PNF con una concentración inicial de 25 mg/g, por efecto de la cepa CEIB S5-2 en un sistema de camas biológicas con y sin bioaumentación. Los * indican las diferencias estadísticamente significativas en los tiempos del tratamiento (36 a 60 horas) $p < 0.05$.

Estudios similares como el de Chi *et al.*, (2012) muestran el efecto de la bioaumentación con *Pseudomonas sp.* WBC-3 en la degradación de PNF a una concentración de 40 mg/g en suelo esterilizado y sin esterilizar, donde reportan la degradación completa a los 2 y 8 días respectivamente, mientras que los ensayos sin bioaumentación reportan la permanencia en suelo sin esterilizar y suelo esterilizado del 29% y 73%, respectivamente de PNF.

Por otro lado, Min-Jun *et al.* (2017) reportaron la bioaumentación en suelo con *Burkholderia sp.* SJ98 en la degradación de una combinación de nitrofenoles, 3-metil-4-nitrofenol y 2-cloro-4-nitrofenol (3M4NP y 2C4NP), incluido el PNF, donde en suelo sin esterilizar la remoción completa sucedió a los 16 días, mientras que en suelo estéril fue en 20 días, partiendo de una concentración inicial de 45 mg/g. Los resultados indicaron que los ensayos sin bioaumentación presentaron PNF residual en un 22% y 81% en suelo sin esterilizar y esterilizado, respectivamente, después de 30 días.

En ambos casos la bioaugmentación mostró una mayor eficiencia de degradación en comparación con los sistemas donde no se inoculó con una cepa específica. Cabe recalcar que este proyecto es el primero en reportar la degradación de PNF en un sistema de camas biológicas; por tanto los estudios antes mencionados realizados en suelo son un acercamiento a este modelo. Así mismo, la bioaugmentación no solo depende de la capacidad catabólica de la cepa introducida, sino también de la supervivencia de esta en un medio complejo como lo es la biomezcla, que en este caso fue bajo condiciones de esterilidad, que ayuda a resaltar el efecto de la cepa CEIB S5-2.

Así mismo, bajo un modelo de regresión lineal los resultados del tratamiento sin bioaugmentación ($R^2 = 0.9638$) mostraron un mejor ajuste en comparación al tratamiento bioaugmentado ($R^2 = 0.7852$), lo que sugiere un comportamiento más lineal en el primero, debido a la ausencia de actividad microbiana adicional a la nativa (Figura 12).

Adicionalmente, se aplicó un modelo cinético de primer orden para describir la degradación de PNF. Los resultados mostraron que el tratamiento con bioaugmentación presentó una constante de velocidad (k) de 0.0399 h^{-1} , una vida media de 19.9 horas y una eficiencia de degradación 2.4 veces mayor que la del tratamiento sin bioaugmentación, que tuvo una constante de 0.0157 h^{-1} , vida media de 40.93 horas y una eficiencia relativa de 1. El ajuste del modelo fue adecuado en ambos casos, con valores de R^2 ajustado de 0.95 para PNF25 y 0.89 para PNF25 + Bc. Estos resultados sugieren que el tratamiento sin bioaugmentación sigue una degradación exponencial, típica de procesos naturales con microbiota nativa (Rodríguez-Gonzales *et al.*, 2022), mientras que la bioaugmentación con *Burkholderia cenocepacia* no solo acelera la degradación del PNF, sino que modifica la cinética del proceso, reduciendo el tiempo de degradación y haciéndolo más eficiente (Figura 12), lo cual es consistente con estudios previos que han reportado mejoras en la degradación mediante la incorporación de cepas especializadas para este xenobiótico (Tempestti *et al.* 2023; Min-Jun *et al.* 2017; Chi *et al.*, 2012).

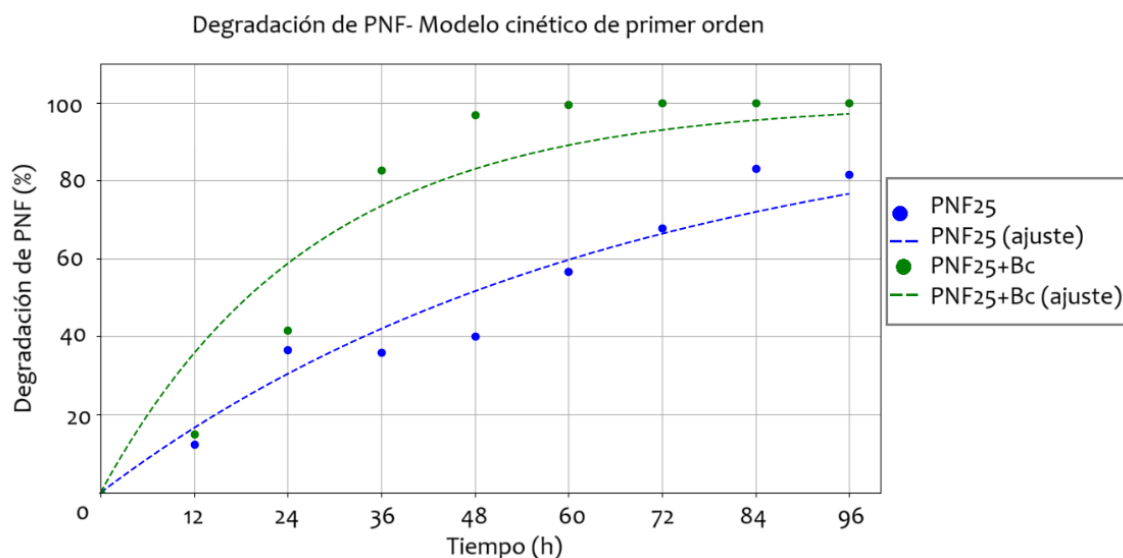


Figura 12. Modelo de degradación de PNF con una concentración inicial de 25 mg/g, en un sistema de camas biológicas ajustado a un modelo cinético de primer orden.

Para la concentración de 50 mg/g, la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los datos no presentan una distribución normal ($W=0.88251$, $p=0.00018$), por lo que se aplicó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney ($U=195$, $p=0.05513$; $p \leq 0.05$). El análisis de los porcentajes de degradación mostró que el tratamiento con bioaumentación (PNF50 + Bc) presentó una mayor eficiencia en las primeras etapas del proceso. Las tasas de degradación fueron más elevadas en este tratamiento, alcanzando 1.151 mg/g·h a las 12 horas, 1.090 mg/g·h a las 36 horas y 0.770 mg/g·h a las 60 horas. En contraste, el tratamiento sin bioaumentación (PNF50) mostró tasas de 0.383 mg/g·h, 0.494 mg/g·h y 0.612 mg/g·h en los mismos tiempos, respectivamente. Con base en estos resultados, el sistema bioaumentado alcanzó el 92% de degradación a las 60 horas y el 100% al final de la prueba, mientras que el sistema sin bioaumentación alcanzó el 73% y 98% respectivamente (Figura 13).

Estudios como los de Samuel *et al.*, (2014), Fernández-López *et al.*, (2017) y Martí-Tempestti, (2023), indican que la degradación de PNF a concentraciones mayores de 50 y 100 mg/L provoca que la actividad microbiana de las cepas aisladas se vea fuertemente disminuida, esto debido a que la mayoría de los compuestos nitro-aromático, como el PNF, los cuales son tóxicos para la microbiota (Bhatti *et al.*, 2002). Sin embargo, en este estudio se observa que, a pesar de la concentración inicial de PNF, el sistema bioaumentado fue capaz de mantener una actividad degradativa eficiente, especialmente en las primeras 36 horas del proceso y hasta las 60 horas, donde se logra el 92% de degradación de PNF. Posteriormente disminuyó, esto debido probablemente a la escasez del xenobiótico.

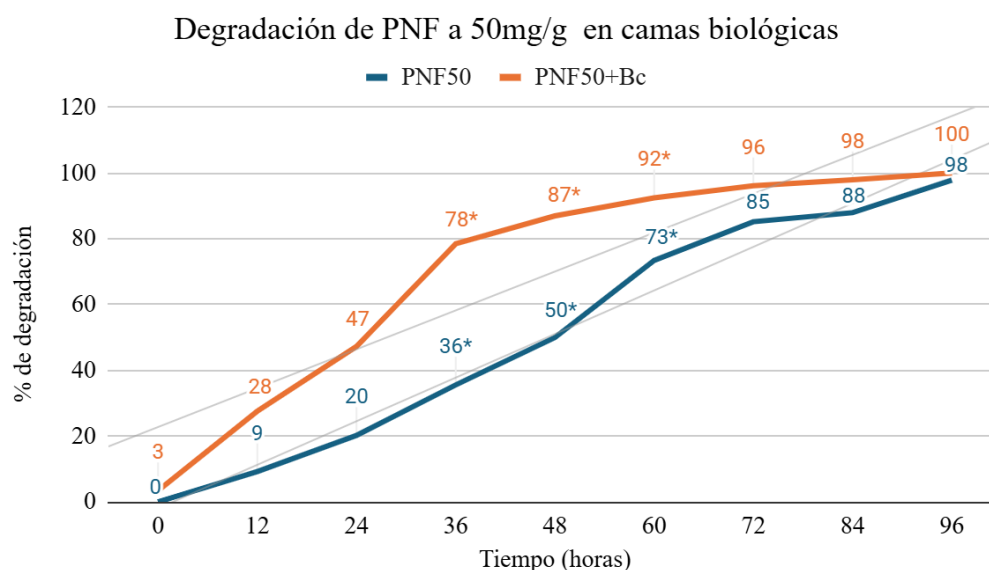


Figura 13. Porcentajes de degradación de PNF con una concentración inicial de 50 mg/g, por efecto de la cepa CEIB S5-2 en un sistema de camas biológicas con y sin bioaugmentación. Los * indican las diferencias estadísticamente significativas en los tiempos del tratamiento (36 a 60 horas) $p < 0.05$.

Este comportamiento pudo deberse a que el inóculo de la cepa CEIB S5-2 se incorporó a la biomezcla en fase exponencial, dejando 48 horas de incubación antes de la aplicación del PNF, permitiendo su adaptación y evitando así, el efecto de inhibición de oxígeno/inhibición de sustrato; es decir, la cepa ajustó su metabolismo a las condiciones de oxígeno presentes en la biomezcla, evitando el estrés inicial que ocurre cuando se introduce directamente junto con el contaminante. Así mismo, la preincubación permitió que *Burkholderia cenocepacia* incrementara la expresión de genes catabólicos (*pnpABA'E1E2FDC*) y sistemas de respuesta al estrés antes de exponerse al compuesto, reduciendo el choque tóxico y favoreciendo la biodegradación eficiente (Mohapatra, 2011; Ortiz-Hernández *et al.*, 2021). Esta estrategia también favorece la formación de biofilm y la estabilización del inóculo en la biomezcla, lo que mejora la resistencia frente a fluctuaciones ambientales y a la toxicidad del contaminante (Silva-Santana *et al.*, 2025).

Por otro lado, el estudio de Min-Jun *et al.* (2017) donde utilizó suelo estéril bioaugmentado con la cepa *Burkholderia* sp. SJ98 para la degradación de PNF, reportó la remoción completa a los 16 días, partiendo de una concentración inicial de 45 mg/g. Mientras que en este estudio la degradación completa sucedió en 4 días en la biomezcla con una concentración inicial de 50 mg/g. Esta diferencia podría deberse a la naturaleza del sustrato y la dinámica microbiana, ya que durante la maduración de la biomezcla, mediante la actividad de la microbiota autóctona se generan enzimas ligninolíticas, como lacasas y peroxidasas, las

cuales han sido reportadas como altamente eficientes en la degradación de diferentes plaguicidas (Saez *et al.*, 2018).

Así mismo, la presencia de materia orgánica y de microorganismos nativos resistentes al proceso de esterilización pudieron generar sinergia con la cepa CEIB S5-2 la cual cuenta con el gen degradador de metil paratión (*mpd*) y el clúster genético (*pnpABA'E1E2FDC*) que codifica a las enzimas implicadas en la degradación de PNF (monooxigenasas, dioxigenasas, reductasas y deshidrogenasas), e incluye los genes relacionados con la percepción de cambios ambientales y la degradación de compuestos aromáticos. Esto permite la degradación del PNF, a pesar de los efectos tóxicos (Ortíz-Hernández *et al.*, 2021). Lo anterior sumado a las condiciones fisicoquímicas óptimas en la biomezcla, permitió una degradación más rápida y eficiente del compuesto, incluso a una concentración inicial de 50 mg/g.

Al igual que en la concentración de 25 mg/g, se aplicó un modelo de regresión lineal y se observó el mismo comportamiento, en donde el sistema sin bioaugmentación presentó un mejor ajuste ($R^2 = 0.9794$) en comparación con el tratamiento bioaugmentado ($R^2 = 0.8402$). Esto sugiere que el sistema sin bioaugmentación sigue una cinética más predecible de tipo exponencial, típica de procesos naturales con microbiota nativa, donde la degradación en el suelo ocurre mediante una sucesión de etapas: primero la adsorción del contaminante a la matriz orgánica y mineral, seguida por la adaptación de la microbiota nativa, que activa rutas metabólicas específicas para la transformación del compuesto y una posterior mineralización parcial o total (Rodríguez-Gonzales *et al.*, 2022; Alidoosti *et al.*, 2024). Mientras que un sistema bioaugmentado puede generar sinergias que aceleran la degradación, optimizando parámetros cinéticos como la velocidad específica y la constante de reacción, como en este caso.

Por otro lado, para demostrar la eficiencia de la cepa CEIB S5-2, se realizó un análisis cinético de primer orden, el cual mostró que el tratamiento con bioaugmentación (PNF50 + Bc) presentó una constante de velocidad (k) de 0.0357 h^{-1} , una vida media de 19.42 horas y una eficiencia de degradación 1.75 veces superior a la del tratamiento sin bioaugmentación (PNF50), que tuvo una constante de 0.0203 h^{-1} , una vida media de 34.15 horas y una eficiencia relativa de 1 (Figura 14).

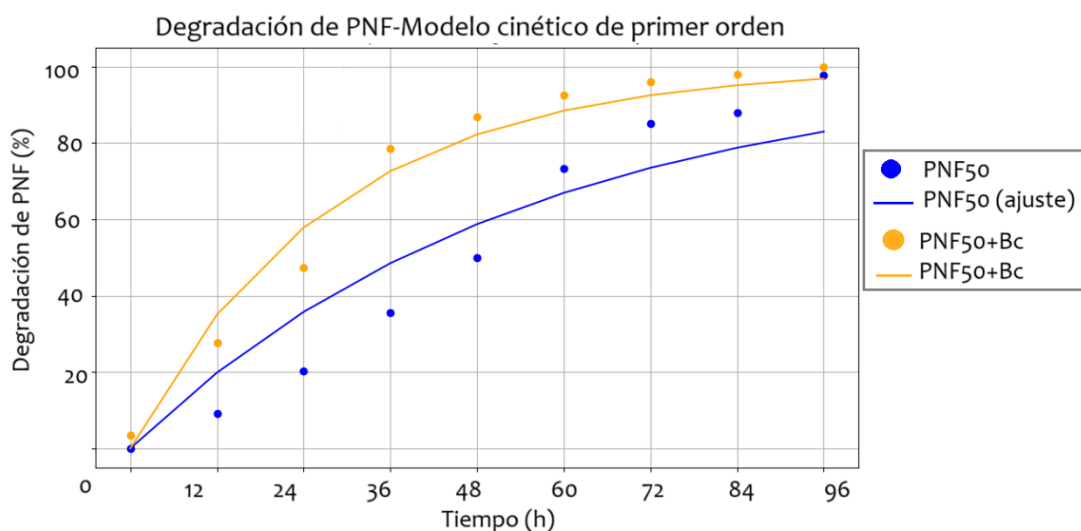


Figura 14. Modelo de degradación de PNF con una concentración inicial de 25 mg/g, en un sistema de camas biológicas ajustado a un modelo cinético de primer orden.

Existen diversos estudios donde se ha reportado que la vida media del PNF en suelo superficial llega a ser de hasta tres días en condiciones aerobias y de 14 días en condiciones anaerobias, dependiendo de diversos factores como el contenido de materia orgánica, el pH, la humedad y la actividad microbiana (ATSDR, 2019; Habekost, 2025). En contraste con el presente estudio, se observó que el tiempo de vida media en el sistema bioaumentado fue de 19.9 y 19.42 horas para las concentraciones de 25 y 50 mg/g, respectivamente, lo cual evidencia que la combinación de la biomezcla con la bioaumentación de la cepa CEIB S5-2, bajo parámetros fisicoquímicos adecuados, puede considerarse como una estrategia de remediación efectiva, ante compuestos fenólicos como el PNF en agroecosistemas, sobre todo en los casos donde la aplicación de paratión metílico o PNF es recurrente, lo cual puede evitar su acumulación en sitios puntuales de contaminación.

Estudios como el de Tortella *et al.* (2012) y Castillo *et al.* (2008); donde se utilizó la técnica de bioaumentación en camas biológicas para la degradación de atrazina y clorpirifos respectivamente, se demostró que en ambos casos la bioaumentación fue 1.5 veces más eficiente en comparación con sistemas sin bioaumentación. Así mismo, Karpouzas *et al.* (2000), Karas *et al.* (2015) y Castro-Gutiérrez *et al.* (2019) reportaron camas biológicas bioaumentadas con bacterias y hongos con tasas de degradación arriba del 75% en un tiempo de 16 a 30 días, utilizando biomezclas que incluían fibra de coco, paja de trigo o residuos vegetales como materiales ricos en lignina.

Diversos estudios han revelado que el éxito de la bioaumentación depende en gran medida de factores ambientales como la temperatura (Fang *et al.*, 2010, Hong *et al.*, 2007), el

pH (Góngora-Echeverría *et al.*, 2018; Grundmann *et al.*, 2007), la humedad (Schroll *et al.*, 2006), el contenido de materia orgánica (Singh *et al.*, 2006), la concentración inicial del plaguicida (Hong *et al.*, 2007) y fuentes de carbono adicionales (Fang *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011; Peter *et al.*, 2015). Si bien, Cycoñ *et al.*, (2017) indican que la bioaumentación puede ser un proceso con resultados impredecibles, debido a los factores bióticos y abióticos que influyen en el resultado final, es por ello muy importante este tipo de investigaciones que contemplen dichos factores para asegurar el éxito de la bioaumentación en el sistema.

VII.4 Evaluación del comportamiento de la cepa *B. cenocepacia* CEIB S5-2 dentro del sistema de camas biológicas.

Para determinar si la cepa *B. cenocepacia* CEIB S5-2 se encontraba en la biomezcla se realizó una siembra por triplicado en placa con AST y placas suplementadas con PNF a 50 mg/L. Para ello se colocó la solución acuosa con MSM obtenida de la biomezcla utilizando la técnica de diluciones seriadas. Se observó que, en las placas suplementadas con PNF se pudo diferenciar el crecimiento de la cepa en la quinta y sexta dilución a las 48 horas, debido al viraje del agar de amarillo intenso a transparente (Figura 15.A). Por medio de Tinción de Gram, se observó la morfología característica de la cepa (bacilo corto Gram negativo). Asimismo se calculó la concentración después de 10 días de haber colocado el inóculo en 2.5×10^7 y 6.8×10^7 UFC/g para las concentraciones de 25 y 50 mg/g respectivamente.

Se pudo observar que, al séptimo día, la cepa comenzó la fase estacionaria, lo cual coincidió con la reducción del contenido de PNF dentro de la cama biológica (Figura 15.B), Esto sugiere que la biomezcla en conjunto con el PNF funcionaron como soporte, fuente de carbono y nutrientes, permitiendo la permanencia de la cepa en las camas biológicas bioaumentadas.

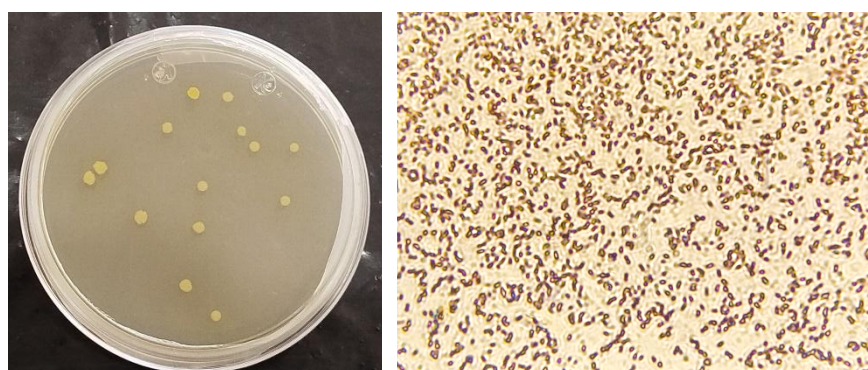


Figura 15. A. Colonias aisladas de la biomezcla, dilución 10^{-6} en placa suplementada con 50 mg/L de PNF. B. Morfología bacilo Gram negativo observada característica de la cepa *B. cenocepacia* CEIB S5-2.

Esto coincide con lo reportado por Fernández-López *et al.*, (2017), en la inmovilización de la cepa CEIB S5-2 en fibra de nopal y agave, donde la cepa se mantuvo viable y capaz de degradar el PNF a una concentración de 50 y 100 mg/g, con un tamaño de inóculo de 6×10^8 y 7×10^8 UFC/g en fibras de nopal y agave, respectivamente.

En este caso la biomezcla permitió actuar como soporte para el tamaño de inóculo (1×10^5 UFC/g), además le permitió la viabilidad de la cepa y la degradación del PNF a una concentración de 50 mg/g. Probablemente si se incrementa el tamaño de inóculo de acuerdo con la concentración inicial de PNF se logre degradar concentraciones de 100 mg/g. Siendo lo reportado en efluentes industriales de este xenobiótico por debajo de 190 mg/L (Tempestti *et al.*, 2023) lo que se puede asumir que incluso a esta concentración del contaminante, la degradación sería considerable.

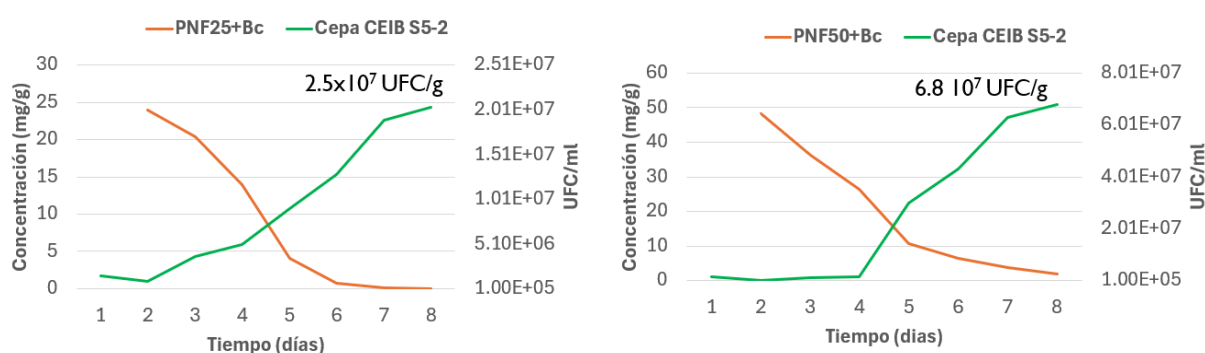


Figura 16. Degradación de PNF y crecimiento de la cepa CEIB S5-2 en el sistema de camas biológicas durante 8 días. Condiciones experimentales: pH: 7.06-7.39; Temperatura: 30 °C; Humedad 70%.

En estudios de bioaumentación en camas biológicas, Tortella *et al.* (2012, 2016) y Karpouzas *et al.* (2000) han reportado el uso de un tamaño de inóculo de *Pseudomonas* sp. entre 1×10^6 a 1×10^8 UFC/g de biomezcla, lo que permite una colonización efectiva sin generar competencia excesiva con la microbiota nativa, a la vez que se asegura la persistencia de la cepa en la biomezcla. Por su parte, Karas *et al.* (2015) indican que, en consorcios microbianos se recomienda una proporción inicial de 1–5% del peso seco de la biobed, lo que permite una distribución homogénea y evita sobrepoblación, que pueda alterar la estructura de la cama biológica.

En el caso del uso de hongos, Castillo *et al.* (2008) y Castro-Gutiérrez *et al.* (2019) reportan que el tamaño de inóculo en sistemas sólidos varía de 5-20% (v/v) del tamaño de la cama biológica. Este valor dependerá de la densidad del micelio y del contenido de humedad, lo cual influirá en la colonización y la expresión de enzimas ligninolíticas (Hickman, 2015).

Chettri *et al.* (2024) indican que es importante calcular el tamaño de inóculo en la técnica de bioaumentación dentro de la biorremediación de contaminantes, ya que este determina la velocidad inicial de degradación. Concentraciones bajas prolongan la fase de adaptación, mientras que concentraciones excesivas pueden generar inhibición por acumulación de metabolitos, alterar la estructura física del sustrato o en este caso, de la cama biológica y aumentar los costos operativos. Así mismo, un inóculo adecuado favorece la formación de biofilm y la persistencia microbiana en la biomezcla, evitando pérdidas por lixiviación.

Por otra parte, la bioaumentación como técnica de biorremediación es una alternativa sostenible, de bajo costo, capaz de superar las limitaciones metabólicas de la microbiota nativa mediante la introducción de microorganismos especializados o consorcios adaptados, lo que mejora la eficiencia global del sistema y disminuye el riesgo ambiental asociado a contaminantes persistentes (Chettri *et al.*, 2024; Muter, 2023; Esa y Nik Him, 2024).

VIII. CONCLUSIONES

- La biomezcla utilizada en los ensayos de camas biológicas, con y sin bioaumentación fue adecuada ya que los factores fisicoquímicos (pH, C/N, densidad aparente y contenido de materia orgánica) presentaron valores dentro de los intervalos considerados óptimos.
- El proceso de estandarización de las camas biológicas en microcosmos permitió establecer las condiciones óptimas de operación (pH neutro, 70% humedad, 30°C), más favorables para la degradación de PNF en el sistema .
- El sistema de camas biológicas permitió la degradación de PNF con tasas de degradación máximas de 0.287 mg/g *h a las 36 horas y 0.612 mg/g *h a las 60 horas, para las concentraciones de 25 y 50 mg/g, respectivamente.
- En los ensayos de bioaumentación con la cepa CEIB S5-2 el desempeño del sistema mejoró. Con una concentración inicial de 25 mg/g de PNF, la eficiencia de degradación fue 2.4 veces más, en comparación con el sistema no bioaumentado, alcanzando una tasa de degradación máxima de 0.580 mg/g *h, a las 36 horas.
- De manera similar para una concentración de concentración inicial de 50 mg/g de PNF, la bioaumentación con la cepa CEIB S5-2 incrementó la eficiencia de degradación 1.7 veces más, respecto al sistema no bioaumentado, con una tasa de degradación máxima de 1.151 mg/g *h, a las 12 horas.
- El sistema de camas biológicas redujo significativamente la vida media del PNF, disminuyendo de 40 a 20 horas y de 34 a 19 horas en las concentraciones de PNF de 25 y 50 mg/g, respectivamente.
- Este estudio es el primer reporte a nivel mundial sobre la degradación de *p*-nitrofenol en el sistema de camas biológicas bajo la técnica de bioaumentación con la cepa CEIB S5-2, demostrando el potencial de esta estrategia para el tratamiento de residuos plaguicidas.

IX. PERSPECTIVAS

- ✓ Identificar los metabolitos derivados de la degradación de PNF, detectados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), mediante técnicas estándar de los posibles metabolitos, como la hidroquinona o mediante metodología de espectrometría de masas-masas.
- ✓ Evaluar el sistema de camas biológicas y de la cepa *Burkholderia cenocepacia* CEIB S5-2 con diferentes plaguicidas o mezcla de ellos, sobre todo los más utilizados a nivel comercial para cultivos agrícolas y de ornato.
- ✓ Identificar los microorganismos presentes en la biomezcla bajo la exposición de diversos plaguicidas comerciales, sobre todo aquellos con liberación de metabolitos más tóxicos que el compuesto original, lo que permitirá identificar microorganismos con potencial biotecnológico y aplicaciones prácticas en la agricultura.
- ✓ Establecer un sistema piloto de cama biológica en un campo de cultivo y evaluar su viabilidad en condiciones reales en campo.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). (2017). Reseña Toxicológica del Paratión. Servicio de Salud Pública, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública en Atlanta, GA. https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts205.html Fecha de consulta: Febrero 2024
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (ATSDR). 2001. Reseña Toxicológica del Metilparatión. Servicio de Salud Pública, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública en Atlanta, GA. https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts48.pdf Fecha de consulta: Febrero 2024
- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades: ATSDR (2023). Toxicological Profile for Nitrophenols. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp50.pdf> Fecha de consulta: Febrero 2024
- Alidoosti, F., Giyahchi, M., Moien, S., & Moghimi, H. (2024). *Unlocking the potential of soil microbial communities for bioremediation of emerging organic contaminants: Omics-based approaches*. Microbial Cell Factories, 23, 210. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02485-z>
- Arellano-Aguilar O., y Rendón von Osten J. (2016). *La Huella de los Plaguicidas en México*. Greenpeace. México. Fecha de consulta: Febrero 2024 enlace: [30b49459-30b49459-plaguicidas_en_agua_ok_em.pdf](https://www.greenpeace.org/mexico/documentos/30b49459-30b49459-plaguicidas_en_agua_ok_em.pdf)
- Bergsveinson, J. Perry, B.J. Sheedy, C. Braul, L. Reedyk, S. Gossen, B.D. Yost, C.K. (2018). *Identifying the core bacterial and fungal communities within four agricultural biobeds used for the treatment of pesticide rinsates*. J. Appl. Microbiol. 2018, 125, 1333–1342
- Briceño, G.; Vergara, K.; Schalchli, H.; Palma, G.; Tortella, G.; Fuentes, M.S.; Diez, M.C., (2008). *Organophosphorus pesticide mixture removal from environmental matrices by a soil Streptomyces mixed culture*. Environ. Sci. Pollut. Res. 25, 21296–21307
- Boedeker, W., Watts, M., Clausen, P. *et al*. RETRACTED ARTICLE: *The global distribution of acute unintentional pesticide poisoning: estimations based on a systematic review*. BMC Public Health 20, 1875. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09939-0>
- Carriquiriborde P. (2021). *Principios de Ecotoxicología*. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de la Plata. pp 342. EDULP ISBN: 978-950-34-1987-8

- Castillo, M. D. P., Torstensson, L., y Stenström, J. (2008). *Biobeds for Environmental Protection from Pesticide Use A Review*. Journal of agricultural and food chemistry, 56(15), 6206–6219. <https://doi.org/10.1021/jf800844x>
- Castillo, M. D. P., y Torstensson, L. (2007). *Effect of biobed composition, moisture, and temperature on the degradation of pesticides*. Journal of agricultural and food chemistry. 55 (14), 5725–5733. <https://doi.org/10.1021/jf0707637>
- Castro-Gutiérrez, V., Masís-Mora, M., Carazo-Rojas, E., Mora-López, M., y Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2019). *Fungal and Bacterial Co-Bioaugmentation of a Pesticide-Degrading Biomixture: Pesticide Removal and Community Structure Variations during Different Treatments*. Water, Air, and Soil Pollution, 230-247 (10) <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4282-y>
- Chauhan, A., Pandey, G., Sharma, N. K., Paul, D., Pandey, J., & Jain, R. K. (2010). *p-Nitrophenol Degradation via 4-Nitrocatechol in Burkholderia sp. SJ98 and Cloning of Some of the Lower Pathway Genes*. Environmental Science & Technology, 44(9), 3435-3441. <https://doi.org/10.1021/es9024172>
- Chettri, D., Verma, A.K. y Verma, A.K. (2024). *Bioaugmentation: an approach to biological treatment of pollutants*. Biodegradation. 35, 117–135 <https://doi.org/10.1007/s10532-023-10050-5>
- Chowdhury, F.R., Bari, M.S., Alam, M.J., Rahman M. M., Bhattacharjee B., Qayyum J. A. y Mridha S.M., (2014). *Organophosphate poisoning presenting with muscular weakness and abdominal pain- a case report*. BMC Res Notes 7, 140. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-140>
- Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas: CICOPLAFEST, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas, (2004). *Catálogo oficial de plaguicidas*. México, D.F. pp 15-27
- Comisión mixta. FAO/OMS del Codex Alimentarius. (2007). *Glosario de términos*. Roma
Fecha de consulta: Marzo,2024 [Glosario de términos | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO](https://www.codexalimentarius.org/glossary/)
- Coppola L., Castillo M. D. P., Monaci E. y Vischetti C., (2007). *Adaptation of the biobed composition for chlorpyrifos degradation to southern Europe conditions*. Journal Of Agricultural and Food Chemistry, 55(2), 396-401. <https://doi.org/10.1021/jf062744n>
- Córdova-Méndez, E.A. Góngora-Echeverría, V.R. González-Sánchez, A. Quintal-Franco, C. Giacomán-Vallejos, y G. Ponce-Caballero, C. (2021). *Pesticide treatment in biobed systems at microcosms level under critical moisture and temperature range using an*

- Orthic Solonchaks soil from southeastern Mexico amended with corn husk as support.* Sci. Total Environ., 772, 145038. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145038>
- Cota-Ruiz K., Nuñez-Gastelúm J. A., Delgado-Ríos M., Martínez-Martínez A. (2019). *Biorremediación: actualidad de conceptos y aplicaciones.* Biotecnia, Vol. XXI (1): 37-44. <https://biblat.unam.mx/hevila/Biotecnia/2019/vol21/no1/5.pdf>
- CropLife L. A., (2017). *Cursos virtuales gratis de agro - CropLife Latin America - Curso gratis de camas biológicas y su uso.* Fecha de realización: Marzo de 2024. Lucia O. (Ed). San José, Costa Rica. <https://cursos.croplifela.org/es/cursos-disponibles/camas-biologicas>
- Dar, M. A., Kaushik, G., y Chiu, J. F. V. (2020). *Pollution status and biodegradation of organophosphate pesticides in the environment.* In Abatement of environmental pollutants. Pardeep S., Ajay K., Anwasha B. (Eds.) (pp. 25–66). Elsevier.
- Del Puerto-Rodríguez, A. M., Tamayo, S. S., & Estrada, D. E. P. (2014). *Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud.* Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. 52(3), 372-387. <https://www.redalyc.org/pdf/2232/223240764010.pdf>
- Dias, L. A., Gebler, L., Niemeyer, J. C., & Itako, A. T. (2020). Destination of pesticide residues on biobeds: State of the art and future perspectives in Latin America. *Chemosphere*, 248,126038. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126038>
- Dyro, F. M. (2020). Organophosphates: Background, pathophysiology, epidemiology. *Drugs Dis.* Fecha de consulta: Marzo, 2024. [Organophosphate Toxicity: Practice Essentials, Background, Pathophysiology](#)
- Dzionek, A., Wojcieszynska, D. y Guzik, U. (2016). *Natural Carriers in Bioremediation: A Review.* Electronic Journal of Biotechnology. 23, 28-36.
- Elorza, F. M. (2020). Camas biológicas. Una alternativa sustentable para la mitigación de riesgos. Fecha de consulta: Marzo-Septiembre 2024-2025. https://www.researchgate.net/publication/344875098_CAMAS_BIOLOGICAS_Una_alternativa_sustentable_para_la_mitigacion_de_riesgos
- Esa, F. N., y Nik Him, N. R. (2024). Bioaugmentación como enfoque de biorremediación para suelos contaminados: una revisión. *Jurnal Teknologi*, 86(5), 1–12. <https://doi.org/10.11113/jurnalteknologi.v86.21085>
- FAO, (2016). *Biobed. Un lecho biológico para minimizar la contaminación puntual por plaguicidas.* Disponible en [Biobed. Un lecho biológico para minimizar la](#)

contaminación puntual por plaguicidas. JTI Instituto Sueco de Ingeniería Agrícola y Ambiental (1library.co) consultado en Marzo 2024

- FAO, (2022). *Gestión de plagas y plaguicidas*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Fecha de consulta Abril: 2024. Recuperado de <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/es/>
- FAO, (2023). *World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2023*. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc8166en>
- FAO, (2024). *World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2024*. Rome.
- FAO y OMS (2022). Manual sobre la elaboración y uso de las especificaciones de los plaguicidas químicos de la FAO y de la OMS. Segunda edición. Roma, FAO y Ginebra, OMS. <https://doi.org/10.4060/cb8401es>
- Fernández-Alberti, S. Rubilar, O. Tortella, G.R. y Diez, M.C. (2012). Chlorpyrifos degradation in a biomix: Effect of pre-incubation and water holding capacity. J. Soil Sci. Plant Nutr. 12, 785–799
- Fernández-López, M. G., Popoca-Ursino, C., Sánchez-Salinas, E., Tinoco-Valencia, R., Folch-Mallol, J. L., Dantán-González, E., y Ortiz-Hernández, M. L. (2017). Enhancing methyl parathion degradation by the immobilization of Burkholderia sp. isolated from agricultural soils. MicrobiologyOpen, 6(5). <https://doi.org/10.1002/mbo3.507>
- Gama-Martínez Y., (2019). *Análisis del transcriptoma de la cepa Burkholderia cenocepacia ceib s5-2 en el proceso de biodegradación de plaguicidas organofosforados*. Tesis de maestría en biotecnología. Pp 99. Centro De Investigación En Biotecnología (CEIB). Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Morelos, México
- Gao, W., Liang, J., Pizzul, L., Feng, X. M., Zhang, K., & Del Pilar Castillo, M. (2014). Evaluation of spent mushroom substrate as substitute of peat in Chinese biobeds. International Biodeterioration & Biodegradation, 98, 107-112. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.12.008>
- García-Hernández J., Leyva Morales J. B., Martínez Rodríguez I. E., Hernández Ochoa M. I., Aldana Madrid M. L., Rojas García A. E., Betancourt Lozano M., Pérez Herrera N. E. y Perera Rios J. H., (2018). Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México. Rev. Int. Contam. Ambie. 34 (Esp01), 29-60. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.esp01.03>

- Gobierno de México (GOBMX). (2021). Riesgos de los plaguicidas para el ambiente. Fecha de consulta: Marzo de 2024. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/26576/riesgos.pdf>
- Góngora-Echeverría, V. R., Quintal-Franco, C., Arena-Ortíz, M. L., Giacomán-Vallejos, G., y Ponce-Caballero, C. (2018). *Identification of microbial species present in a pesticide dissipation process in biobed systems using typical substrates from southeastern Mexico as a biomixture at a laboratory scale*. Science of the Total Environment, 628, 528–538 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.082>
- Goonasekera, C., & Karalliedde, L. (2022). *Laryngeal Dysfunction and Acute Organophosphorus Poisoning*. Indian Journal of Critical Care Medicine: Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine, 26(2), 155-156. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-24107>
- Habekost, A. (2025). *Analysis of p-Nitrophenol Reduction*. World Journal Of Chemical Education, 13(1), 7-16. <https://doi.org/10.12691/wjce-13-1-2>
- Hayden, K. M., Norton, M. C., Darcey, D., Ostbye, T., Zandi, P. P., Breitner, J. C., Welsh-Bohmer, K. A. (2010). *Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD: the Cache County study*. Neurology, 74(19), 1524–1530. <https://doi.org/10.1212/wnl.0b013e3181dd4423>
- Hernández-Castellanos J. L., Cuervo-González R., Montañez-Soto J. L., Hernández-Castellanos N. D., Pérez-Vargas M. A., Cruz-Hernández A. y Chaires-Martínez L. (2021). *Biodegradación de plaguicidas organofosforados y organoclorados por candida tropicalis y stenotrophomonas maltophilia en microcosmos del suelo*. Rev. Int. Contam. Ambie. 37, 553-564. <https://doi.org/10.20937/RICA.53889>
- Hernández-Ruiz, G. M., Álvarez-Orozco N.A., Ríos-Osorio L.A., (2017). *Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: revisión sistemática*. Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria. 18(1), 139-159.
- Hickman, Amanda N., (2015). *The effects of inoculum size, airflow rate, bulk density and particle size on the scale-up of phanerochaete chrysosporium pretreatment*. Theses and Dissertations--Biosystems and Agricultural Engineering. 29. https://uknowledge.uky.edu/bae_etds/29
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura Sede Central: IICA, (2018). De Pesquisa Agropecuária Brasília Df, E. B. Lechos biológicos en la agricultura : una tecnología viable para reducir los riesgos de contaminación por el uso de plaguicidas. Fecha de consulta: Mayo 2024. <http://repositorio.iica.int/handle/11324/6911>

- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático, (INECC) (2020). *Estudios sobre el uso de plaguicidas en México 1980-2018*. pp. 54
[141_2022_Estudios_plaguicidas_Mexico_1980-2018.pdf \(www.gob.mx\)](#). Consultado marzo 2024
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC), (2019). Diagnóstico sobre la Contaminación por Plaguicidas en Agua Superficial, Agua Subterránea y Suelo. pp. 37.
<https://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2018/CD005857.pdf> consultado: maro 2021
- Jokanović, M. (2018). *Neurotoxic effects of organophosphorus pesticides and possible association with neurodegenerative diseases in man: A review*. Toxicology, 410, 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2018.09.009>
- Kamal, A., Ahmad, F., y Shafeeqe, M. A. (2020). *Toxicidad de los plaguicidas para las plantas y los organismos no objetivo: una revisión exhaustiva*. Revista Iraní de Fisiología Vegetal, 10, 3299–3313.
- Karanasios, E. Karpouzas, D.G. Tsiropoulos, N.G. (2012). *Key parameters and practices controlling pesticide degradation efficiency of biobed substrates*. J. Environ. Sci. Health B. 47, 589–598.
- Karanasios, E. Tsiropoulos, N.G. Karpouzas, D.G. y Ehaliotis, C. (2010). *Degradation and adsorption of pesticides in compost-based biomixtures as potential substrates for biobeds in Southern Europe*. J. Agric. Food Chem. 58, 9147–9156.
- Kathiravan, A.; Gnanadoss, J.J. 2021. *White-rot fungi-mediated bioremediation as a sustainable method for xenobiotic degradation*. Environ. Exp. Biol. 19, 103–119.
- Kumar, S.S. Ghosh, P. Malyan, S.K. Sharma, J. Kumar, V. A (2019). *Comprehensive review on enzymatic degradation of the organophosphate pesticide malathion in the environment*. J. Environ. Sci. Health C. 37, 288–329.
- Ley general para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR), 2023. [Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos \(diputados.gob.mx\)](#)
 Diario Oficial de la Federación 2023.
- Liu F.Y., Hong M.Z, Liu D.M, Li Y.W., Shou P.S., Yan H., Shi G.Q. (2007). *Biodegradation of methyl parathion by Acinetobacter radioresistens USTB-04*. Journal of Environmental Sciences. 19(10),1257-1260.
- López-Barilllas, A. C. (2016). *Propuesta de tratamiento de aguas residuales de lavado de equipo agronómico utilizando biofiltros*. Tesis de licenciatura. Universidad Rafael

- Landivar. Guatemala de la Asunción
<http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2016/02/13/Lopez-Ana.pdf>
- López-Falcón, R. (2002). Degradación del suelo: causas, procesos, evaluación e investigación (CIDIAT, Ed.; 2da ed.). CIDIAT.
<https://1library.co/document/zln1kjrj-degradacion-de-suelos-pdf.html>
- Manthripragada, A. D., Costello, S., Cockburn, M. G., Bronstein, J. M., Ritz, B. (2010). *Paraoxonase 1, agricultural organophosphate exposure, and Parkinson disease*. *Epidemiology*, 21, 87–94. <https://doi.org/10.1097/ede.0b013e3181c15ec6>
- Marrero, S., González, S., Guevara, H., y Eblen, A. (2017). *Evaluación de la exposición a organofosforados y carbamatos en trabajadores de una comunidad agraria*. *Comunidad y salud*, 17(1), 30-41.
<http://www.redalyc.org/pdf/3757/375752386005.pdf>
- Martínez-Ocampo, F., Fernández-López, M.G., Lozano-Aguirre, Beltrán L.F., Popoca-Ursino, E. C., Ortiz-Hernández, M.L., Sánchez-Salinas, E., Ramos-Quintana, F., Villalobos-López, M.A., Dantán-González, E., (2016). *Draft genome sequence of Burkholderia cenocepacia strain CEIB S5-2, a methyl parathion- and p-nitrophenol-degrading bacterium, isolated from agricultural soils in Morelos, Mexico*. *Genome Announc* 4(2):e00220-16. doi:10.1128/genomeA.00220-16.
- Méndez-Matías, Artemio, Robles, Celerino, Ruiz-Vega, Jaime, y Castañeda-Hidalgo, Ernesto. (2018). Compostaje de residuos agroindustriales inoculados con hongos lignocelulósicos y modificación de la relación C/N. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(2), 271-280. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i2.1070>
- Miglioranza, K.S.B., (2021). *Principales familias de contaminantes, fuentes, distribución y destino ambiental*. Principios de Ecotoxicología. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de la Plata. pp. 27-61
- Min, J., Wang, B., & Hu, X. (2017). *Effect of inoculation of Burkholderia sp. strain SJ98 on bacterial community dynamics and para-nitrophenol, 3-methyl-4-nitrophenol, and 2-chloro-4-nitrophenol degradation in soil*. *Scientific reports*, 7(1), 5983. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06436-0>
- Mussali-Galante, P., Castrejón-Godínez, M. L., Díaz-Soto, J. A., Vargas-Orozco, Á. P., Quiroz-Medina, H. M., Tovar-Sánchez, E., y Rodríguez, A. (2023). *Biobeds, a Microbial-Based Remediation System for the Effective Treatment of Pesticide Residues in Agriculture*. *Agriculture*, 13(7), 1289. <https://doi.org/10.3390/agriculture13071289>

- Muter, O. (2023). Tendencias actuales en herramientas de bioaugmentación para biorremediación: una revisión crítica de los avances y las lagunas de conocimiento. *Microorganisms*, 11(3), 710. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030710>
- Obiols Quinto J. (1999). *NTP512: Plaguicidas organofosforados (I): aspectos generales y toxicocinética*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, Madrid, España. [NTP 512: Plaguicidas organofosforados \(I\): aspectos generales y toxicocinética \(insst.es\)](https://www.insst.es) consultado marzo 2024.
- Omirou, M., P. Dalias, C. Costa, C. Papastefanou, A. Dados, C. Ehaliotis, D.G. Karpouzaz. (2012). *Exploring the potential of biobeds for the depuration of pesticide-contaminated wastewaters from the citrus production chain: Laboratory, column and field studies*. *Environmental Pollution* 166, pp. 31-39
- Ordoñez-Beltrán, V. Frías-Moreno, M.N. Parra-Acosta, H. Martínez-Tapia, M.E. (2019). Estudio sobre el uso de plaguicidas y su posible relación con daños a la salud. *Revista de Toxicología*, vol. 36, núm. 2, pp. 148-162. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91967023011>
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, (2002). *Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas*. Adoptado por el 123º periodo de sesiones del Consejo de la FAO. Roma, Italia. pp 1-31
- Organización Mundial de la Salud: OMS. (2022,). *Residuos de plaguicidas en los alimentos*. [Residuos de plaguicidas en los alimentos \(who.int\)](https://www.who.int) consultado 12 de marzo de 2024
- Ortíz I., Ávila-Chávez M. A.; Torres Luis G. (2014). *Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio*. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 5 (1), pp. 26-46. <https://doi.org/10.7603/s40682-014-0003-9>
- Ortiz-Hernández, M. L., Gama-Martínez, Y., Fernández-López, M. G., Castrejón-Godínez, M. L., Encarnación, S., Tovar-Sánchez, E., Salazar, E., Rodríguez, A., & Mussali-Galante, P. (2021). *Transcriptomic analysis of Burkholderia cenocepacia CEIB S5-2 during methyl parathion degradation*. *Environmental Science And Pollution Research International*, 28(31), 42414-42431. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13647-6>
- Ortiz-Hernández, M.L., Rodríguez, A., Sánchez-Salinas, E., Castrejón-Godínez, M.L. (2014). *Bioremediation of Soils Contaminated with Pesticides: Experiences in Mexico*. In: Alvarez, A., Polti, M. (eds) *Bioremediation in Latin America*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-05738-5_5

- Laura, Ma., Sánchez-Salinas, E., Dantán González, E., & Luisa, M. (2013). Pesticide Biodegradation: Mechanisms, Genetics and Strategies to Enhance the Process. InTech. <https://doi.org/10.5772/56098>
- Pailan, S., Sengupta, K., & Saha, P. (2020). *Microbial Metabolism of Organophosphates: Key for Developing Smart Bioremediation Process of Next Generation*. In: Arora, P. (eds) Microbial Technology for Health and Environment. Microorganisms for Sustainability, 22. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2679-4_14
- Pakala, S. B., Gorla, P., Pinjari, A. B., Krovidi, R. K., Baru, R., Yanamandra, M., Merrick, M., & Siddavattam, D. (2007). *Biodegradation of methyl parathion and p-nitrophenol: evidence for the presence of a p-nitrophenol 2-hydroxylase in a Gram-negative Serratia sp. strain DS001*. Applied microbiology and biotechnology, 73(6), 1452–1462. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0595-z>
- Peña-Martínez, M. (2014). Síntesis de nanopartículas metálicas y su aplicación en la reducción de 4-nitrofenol por un consorcio microbiano anaerobio [Tesis de maestría, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.]. Disponible en: <https://ipicyt.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1010/1540/1/TMIPICYTP4S52014.pdf>
- Pesticide Action Network Internacional: PAN, (2020, 9 diciembre). *Un nuevo estudio revela un aumento dramático en los envenenamientos globales por causa de plaguicidas*. Fecha de consulta: marzo de 2024 <https://pan-international.org/es/release/un-nuevo-estudio-revela-un-aumento-dramatico-en-los-envenenamientos-globales-por-causa-de-plaguicidas/#:~:text=Se%20estima%20que%20el%20total%20mundial%20de%20fatalidades,con%20el%20uso%20de%20pesticidas%2C%20seg%2C%20BAN%20los%20investigadores>
- Pino Vázquez A. y Brezmes Raposo M., (2018). *Protocolo de intoxicación por organofosforados*. Sociedad y fundación española de cuidados intensivos pediátricos. Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Valladolid, España. 17pp. [*Intoxicación-por-organofosforados.pdf \(secip.info\)](https://www.secip.info/Intoxicación-por-organofosforados.pdf)
- PNUMA, (2017). Towards a Pollution-Free Planet Background Report. United Nations Environment Programme, Nairobi, Kenya. https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/21800/UNEA_towardspollution_long%20version_Web.pdf?sequence=3
- Popoca-Ursino E., (2012). *Aislamiento de bacterias con capacidad de degradación de plaguicidas organofosforados, evaluación molecular de sus actividades*. Maestría en

- Biotecnología. Centro de Investigación en Biotecnología (CEIB), Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Morelos, México. pp 100.
- Prado-Flores G., Castelán-Ortega O. y García-Casillas A.C., (2017). *Plaguicidas organofosforados: un desafío entre la productividad y la salud. artículo de revisión. Sociedades rurales.* 17 (34), pp. 137-152
<https://sociedadesruralesojs.xoc.uam.mx/index.php/srpma/article/view/337>
- Quiroz-Medina H. M., (2021). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales en la generación de biobeds para el tratamiento de la contaminación puntual por plaguicidas.* Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), Morelos, México. pp. 52.
- Ranjan, A., & Jindal, T. (2022). *Toxicology of Organophosphate Poisoning in Human.* In: Toxicology of Organophosphate Poisoning. Springer, Cham.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-79128-5_2
- Richardson, J. R., Fitsanakis, V., Westerink, R. H. S., Kanthasamy, A. G. (2019). *Neurotoxicity of pesticides.* Acta Neuropathologica, 138(3), 343-362.
<https://doi.org/10.1007/s00401-019-02033-9>
- Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G., Bastida-Codina, A., Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G., y Bastida-Codina, A. (2022). *Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación.* Ciencias Ambientales. (56) 1
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2215-38962022000100178
- Rodríguez-Rodríguez C.E., Jelić A., Pereira M.A., Sousa D.Z., Petrović M., Alves M. M., Barceló D., Caminal G., y Vicent T. (2012). *Bioaugmentation of sewage sludge with Trametes versicolor in solid-phase biopiles produces degradation of pharmaceuticals and affects microbial communities.* Environ Sci Technol. 46 (21), 12012–12020.
<https://doi.org/10.1021/es301788n>
- Saez, J.M. Bigliardo, A.L. Raimondo, E.E. Briceño, G.E. Polti, M.A. y Benimeli, C.S., (2018). *Lindane dissipation in a biomixture: Effect of soil properties and bioaugmentation.* Ecotoxicol. Environ. Saf. 156, 97–105.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.011>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), (2019). Manual para el buen uso y manejo de plaguicidas en campo. 1° edición Fecha de consulta marzo, 2024.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/452645/MANUAL_PARA_EL_BUEN_USO_Y_MANEJO_DE_PLAGUICIDAS_EN_CAMPO.pdf

- Serpa-Vásquez, E. (2022). *Guía para la elaboración de camas biológicas como alternativa eficaz de manejo de sustancias fitosanitarias*. Informe para PalmaAceite S.A. Universidad del Magdalena. Facultad de Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Fecha de consulta: Abril 2024.
<https://rest-repositorio.unimagdalena.edu.co/server/api/core/bitstreams/d3bf53fa-c74f-46df-b688-9dc40da8ee41/content>
- Sethunathan, N., & Yoshida, T. (1973). *A Flavobacterium sp. that degrades diazinon and parathion*. Canadian Journal of Microbiology, 19(7), 873–875.
<https://doi.org/10.1139/m73-138>
- Silva-Santana, G., Sales, F. L. S., Aguiar, A. R., Y Brandão, M. L. L. (2025). Pharmaceutical Contamination by Biofilms Formed of the *Burkholderia cepacia* Complex: Public Health Risks. *Processes*, 13(5), 1270. <https://doi.org/10.3390/pr13051270>
- Silveira-Gramont M.I., Aldana-Madrid M.L., Piri-Santana J., Valenzuela-Quintana A.I., Jasa-Silveira G., Rodríguez Olibarria G. (2018). *Plaguicidas agrícolas: Un marco de referencia para evaluar riesgos a la salud en comunidades rurales en el estado de Sonora, México*. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 34,7-21.
- Singh B. (2009). Organophosphorus-degrading bacteria: ecology and industrial applications. *Nat Rev Microbiol.* 7, 156–164. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2050>
- Singh, R.K.; Tripathi, R.; Ranjan, A.; Srivastava, A.K., (2020). *Fungi as potential candidates for bioremediation*. In *Abatement of Environmental Pollutants*; Singh, P., Kumar, A., Borthakur, A., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 177–191.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818095-2.00009-6>
- Singh, R.L. (2017). *Introduction to Environmental Biotechnology*. En: *Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future*. R.L. Singh (ed.), pp 1-12. Springer, Singapore
- Sun, L., Cao, X., Li, M., Zhang, X., Li, X., & Cui, Z. (2017). Enhanced bioremediation of lead-contaminated soil by *Solanum nigrum* L. with *Mucor circinelloides*. *Environmental science and pollution research international*. 24(10), 9681–9689.
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-8637-x>
- Tchieno, F. & Tonle, I. (2018). p-Nitrophenol determination and remediation: an overview. *Reviews in Analytical Chemistry*, 37(2), 20170019.
<https://doi.org/10.1515/revac-2017-0019>.
- Torstensson, L. (2000). *Experiences of biobeds in practical use in Sweden*. *Pestic. Outlook*, 11, 206–211.

- Torstensson, L. y Castillo, M. (1997). *Use of biobeds in Sweden to minimize environmental spillages from agricultural spraying equipment*. Pestic. Outlook. 8, 24–27.
- Tortella, G.R. Rubilar, O. Castillo, M. Cea, M. Mella-Herrera, R. Diez, M. C. (2012). *Chlorpyrifos degradation in a biomixture of biobed at different maturity stages*. Chemosphere. 88, 224–228
- Tropel D., y Vander Der Meer J. (2004). *Bacterial transcriptional regulators for degradation pathways of aromatic compounds*. Microbiol. Mol Biol Rev. (3), 474-500
- United Nations Environment Programme (2017). Towards a pollution-free planet. Tomado del Plan Nacional de Remediación de Sitios Contaminados (PNRSC). Fecha de consulta: Marzo 2024.
<https://www.gob.mx/semarnat/documentos/programa-nacional-de-remediacion-de-sitios-contaminados-2021-2024>
- Universidad de La Frontera. Instituto de Agroindustria e Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Carillanca (2013). *Manual de construcción y operación de lechos biológicos, Proyecto D09R1006. Manejo adecuado de residuos de Plaguicidas en la Producción Frutícola de la región de La Araucanía a través de la implementación y difusión de Lechos Biológicos* [en línea]. Temuco: UFRO. Fecha de consulta: Abril 2024
<https://hdl.handle.net/20.500.14001/33377>
- Vittozzi, L., Frabrizi L., Di Consiglio E., Testai E., (2001). *Mechanistic aspects of organophosphorothionate toxicity in fish and humans*. Environment International. 26(3),125-129. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(00\)00102-1](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(00)00102-1)
- Xiang-Qun Chi, Jun-Jie Zhang, Shuo Zhao, Ning-Yi Zhou, Bioaugmentation with a consortium of bacterial nitrophenol-degraders for remediation of soil contaminated with three nitrophenol isomers, Environ Pollut, Volume 172, 2013, Pages 33-41, ISSN 0269-749, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.08.002>
- Yáñez-Ocampo, G., Sánchez-Salinas, E., & Ortiz-Hernández, M. L. (2011). *Removal of methyl parathion and tetrachlorvinphos by a bacterial consortium immobilized on tezontle-packed up-flow reactor*. Biodegradation, 22, 1203-1213.
- Zhang S., Sun W., Xu L., Zheng X., Chu X., Tain J., Wu N. & Fan Y., (2012). Identification of the p-nitrophenol catabolic pathway, and characterization of three enzymes involved in the hydroquinone pathway, in Pseudomonas sp. 1-7. BMC Microbiol. (12):27.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA

Maestría en Biotecnología

Cuernavaca, Morelos, a 27 de marzo del 2026.

VOTOS APROBATORIOS DE TESIS

Los integrantes de la Comisión Revisora de la tesis titulada: "Evaluación de un sistema de cama biológica bioaumentado con *Burkholderia cenocepacia* CEIB S5-2 como alternativa para la degradación de *p*-nitrofenol" Que presenta la **C. Yadira Ángeles Velázquez**, del Programa de Posgrado Maestría en Biotecnología, bajo la dirección de la DRA. PATRICIA MUSSALI GALANTE y la codirección del DR. ALEXIS JOAVANY RODRÍGUEZ SOLÍS, han determinado que el documento reúne los requisitos académicos para su defensa oral en el examen de grado, por lo que emiten su **VOTO APROBATORIO**.

Comisión Revisora de tesis (firma electrónica)

Dra. Patricia Mussali Galante (directora de tesis, CEIB UAEM)
Dr. Alexis Joavany Rodríguez Solís (codirector de tesis, CEIB UAEM)
Dr. Fernando Martínez Morales (CEIB UAEM)
Dr. Efraín Tovar Sánchez (CIByC UAEM)
Dra. María Luisa Castrejón Godínez (FCB)





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento con firma electrónica UAEM, soportada por el certificado vigente a la fecha de su elaboración y con efectos plenos de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS PUBLICADOS en el ÓRGANO INFORMATIVO UNIVERSITARIO "ADOLFO MENÉNDEZ SAMARÁ" número 117 de fecha 20 de abril de 2021.

Sello electrónico

ALEXIS JOAVANY RODRIGUEZ SOLIS | Fecha:2026-05-15 13:41:20 | FIRMANTE

WRy8PzUBHDVixUjD+Xixphc0czbPCN0ZtZQeQGvKwXYJ3d+3qci7yqplfLiSGAdaOhyrJACYo1mNdyXL6AhfTj8legF5C4g3pcNpH/MVklilTmo8UYVcDKBoB2ez+PhT8X42KN5U
DPfXgad1uoKVQ6b7Yp98G4WRDchRkl6GkAeOwCPfuR4V+FXzEHbH9XB4sA5ZORw7pqfLpgAPS2NcGlaB1oiEt0ncEjoDO5dG3X8870+zETMvKs8t47+9n7vy1pmEPZSkjtFVd3
NsGzEcfa8EpYcaCkAlvXJ6W8fxGg4/dE8Wmk0TK+mkDyi6ji5PJicCyJJu7VvrUOACRbCw==

FERNANDO MARTINEZ MORALES | Fecha:2026-05-16 16:36:04 | FIRMANTE

bFxs4iilNt2zYw7JQ0uht6NWNfY5a774AOHcJTLB5q5obUN60nWzLvnMw88/csUo9bQelHA8hAjbqFGAly5/fwSqrTUpOBVt0vtLpOpyZ1YvCZaiL+zNxESRX9ocQduezFxYtjPjTv
SymFsFzv7Za4LDVuuqHYMmmNqdHyMTiilM+UCYEIDLWFtyeVLP5r77SGMPAToW5TCaK+JkIM8slbBWX1+H041mBellP3yODmPBIZ+aK5QAradqkjdMhNtCn8gokvMJUcP4
Q2Zi8JZopDeCgv2DLbfttVIikUVEH4gh21BbGwbOMcEpBOK5RMjpSfZWzk1KpzeEphqV2cQQ==

MARIA LUISA CASTREJON GODINEZ | Fecha:2026-05-17 09:41:16 | FIRMANTE

r1ATeNpobILA325puG0H8U4x+xzENGWJrDdnyDQP8udMAD0z2i0OWZmTp2WhYHMD3PJU7lerMbKktykn4luJBfiZblq5TXj3mS6QBlt+OeJ3ei7ESBzdH7ne8GwW9RoISUEbt5li
ax9x9elNcbxp5VC6vky3WWRJSSpp6CorBQVBqCCuGTF3vfnOUUpoHDVhuCeXWJygJkMrQGTrOX5xzW224wltO3gC+NSRFKW21i8y5cDZv9+wLEH7BQT/i3g9GLbKy4ZDaqFf
bK96QKr/kq2e0JICMPd3+C3D+Ishov4K7fHqvZnOIGDpsaRAAnd40U8AXG77A0rMmak/lnrVJA==

PATRICIA MUSSALI GALANTE | Fecha:2026-05-18 11:13:41 | FIRMANTE

l2upzzl+d+fH6EXEyqQCvbCFqhROjbxGhKCTlGy5afjahEsAjdNtePplnEwdsw9Z3x5Rnl28hw9Ohm9iRRPtwc69QdPYE8bvqHCPK/UQvJGKIRGP+zRWt1aYWUvkXVOz96wFJM
e/95JDOT1z1t1vuj2TfWsv2vAG21I8IHuzzxdE03n0SweZvAQfsDSynJGrX7l/udD1Yh5drghvmRKTqrOA3HxTs4fEWjXBfj2r+YC6hPS1iKrWRDqJP4r6vTFoMKfJFJ9DvCl3wXzJi
dFYjmAO2Y+aVK5coFv0/9rZzE6cicseK+XQigCnT3IAfvue5sP0yXBD4XG3mjBWnA==

EFFRAIN TOVAR SANCHEZ | Fecha:2026-05-18 11:53:20 | FIRMANTE

wc1359GB8CHpubsHKLK2g32oohpotRKYfdHqax/N0ld35X9U3PHOHsg5az9v1h0g6M+U6DNUB5Uu/kpUXFvNATuKd+Wfe5Lq0PDPEHqnM5f/C731ZjEZkhVbU7/GAR0RsJ6ddU
kBf0CNayw9h3fmoPtWDSdKQLHNGD4UOI2JT4E3dgsIbeQi/KkCy2eQBbjREUDb5UY7qN8oVklkBC+5joDY0EiYlJIDU/dqODzOG6YN6w74pOjsVrxqtGYyTZ8KygnhP2+W7hP2
ZXyEN1feoTgXlBRb7QforhWftWgnxJrqr/dlIP2fQfUtxBslpEeKOfrjYulZ4oVLdRU44C3Q==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



tq5DmPz16

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/2nDnXPdfz9AKI9iub3OX3tiDu0AdmNy>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029