



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE UN INOCULANTE BACTERIANO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HIDROCARBUROS DURANTE LA  
BIORREMEDIACIÓN DE SUELO POR CO-COMPOSTAJE CON  
LIRIO ACUÁTICO (*Eichhornia crassipes*)**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**LICENCIADA EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

PRESENTAN:

**SUSANA ISABEL TORRES ANDRADE  
JANETH MONSERRAT CONTRERAS CAPETILLO**

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

**DR. ILDEFONSO JESÚS DÍAZ RAMÍREZ**

EN CODIRECCIÓN DE:

**DRA. ERIKA ESCALANTE ESPINOSA**

## Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa, Tabasco, el día 29 del mes de agosto del año 2024, las que suscriben **Susana Isabel Torres Andrade**, alumna del Programa **Licenciatura en Ingeniería Ambiental** con número de matrícula **182G24017**, y **Janeth Monserrat Contreras Capetillo**, alumna del Programa **Licenciatura en Ingeniería Ambiental** con número de matrícula **182G24003** adscritas a la **División Académica de Ciencias Biológicas** de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autoras de la Tesis presentada para la obtención del título de **Licenciatura** y titulada "**Evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante la biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)**" dirigida por el **Dr. Ildefonso Jesús Díaz Ramírez** y la **Dra. Erika Escalante Espinosa**.

### DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 29 de agosto 2024.



Susana Isabel Torres Andrade

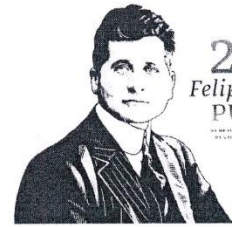
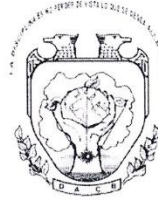


Janeth Monserrat Contreras Capetillo



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024  
Felipe Carrillo  
PUERTO  
GOBIERNO DEL ESTADO DE TABASCO  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN  
MEXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIRECCIÓN

Villahermosa, Tab., a 20 de Junio de 2024

**ASUNTO:** Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON  
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES  
P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a las **CC. SUSANA ISABEL TORRES ANDRADE Y JANETH MONSERRAT CONTRERAS CAPETILLO** egresadas de la Lic. en **ING. AMBIENTAL** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: **"EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE UN INOCULANTE BACTERIANO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HIDROCARBUROS DURANTE LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELO POR CO-COMPOSTAJE CON LIRIO ACUÁTICO (*Eichhornia crassipes*)"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E

  
DR. ARTURO GARRIDO MORA  
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



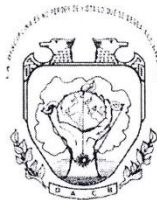
DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica  
C.c.p.- Interesado



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024  
Felipe Carrillo  
PUERTO  
MEMORANTE DEL GOBIERNO FEDERAL  
DE INDEPENDENCIA Y DEL ESTADO  
DE TABASCO  
GOBIERNO DE  
MÉXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN

JUNIO 20 DE 2024

**C. SUSANA ISABEL TORRES ANDRADE**  
**C. JANETH MONSERRAT CONTRERAS CAPETILLO**  
**PAS. DE LA LIC. EN ING. AMBIENTAL**  
**P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DE UN INOCULANTE BACTERIANO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE HIDROCARBUROS DURANTE LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELO POR CO-COMPOSTAJE CON LIRIO ACUÁTICO (*Eichhornia crassipes*)"**, asesorado por el Dr. Ildefonso Jesús Díaz Ramírez y Dra. Erika Escalante Espinosa, sobre el cual sustentarán su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por la MCA. Rosa Martha Padrón López, MISA. Elizabeth Magaña Villegas, Ildefonso Jesús Díaz Ramírez, Dra. Ana Rosa Rodríguez Luna y MCA. José Aurelio Sosa Olivier.

**A T E N T A M E N T E**  
**ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

  
**DR. ARTURO GARRIDO MORA**  
**DIRECTOR**

U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.  
Archivo.

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA  
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401. e-mail: direccion.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua y ayuda a conservar los bosques

www.ujat.mx



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**2024**  
**Felipe Carrillo**  
**PUERTO**  
GOBIERNO DE  
MÉXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN**

20 de junio de 2024

**C. Susana Isabel Torres Andrade**  
**C. Janeth Monserrat Contreras Capetillo**  
**Pasantes de la Lic. en Ingeniería Ambiental.**  
**PRESENTE**

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (**Tesis**), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la revisión en la plataforma iThenticate de su documento de tesis "**Evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante la biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)**"

OBSERVACIONES:

Se incluyeron citas, se excluyeron bibliografía, fuentes pequeñas y se limitó el tamaño de coincidencias a 10 palabras.

<b>RESULTADO DE SIMILITUD</b>	<b>14 %</b>
	<b>16689 palabras, 125 coincidencias, 63 fuentes</b>

Finalmente, se le solicita al **C. Susana Isabel Torres Andrade y Janeth Monserrat Contreras Capetillo**, integrar en la versión final del trabajo recepcional (Tesis), este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"**

**DR. ARTURO GARRIDO MORA**  
**DIRECTOR**

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
ESTADO DE TABASCO



C.c.p. Dr. Ildefonso Jesús Díaz Ramírez. Director de tesis.  
C.c.p. Archivo

# Evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante la biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)

INFORME DE ORIGINALIDAD

# 14%

ÍNDICE DE SIMILITUD

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://ambiental.unam.mx">ambiental.unam.mx</a> Internet	184 palabras — 1%
2	<a href="http://www.mag.go.cr">www.mag.go.cr</a> Internet	156 palabras — 1%
3	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Internet	125 palabras — 1%
4	<a href="http://www.elsevier.es">www.elsevier.es</a> Internet	99 palabras — 1%
5	<a href="http://ddd.uab.cat">ddd.uab.cat</a> Internet	86 palabras — 1%
6	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Internet	82 palabras — 1%
7	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Internet	73 palabras — 1%
8	<a href="http://www.scielo.org.mx">www.scielo.org.mx</a> Internet	60 palabras — < 1%

9	<a href="http://hemeroteca.unad.edu.co">hemeroteca.unad.edu.co</a> Internet	52 palabras — < 1%
10	<a href="http://revistas.unal.edu.co">revistas.unal.edu.co</a> Internet	52 palabras — < 1%
11	<a href="http://www.amica.com.mx">www.amica.com.mx</a> Internet	52 palabras — < 1%
12	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Internet	42 palabras — < 1%
13	<a href="http://aidisnet.org">aidisnet.org</a> Internet	41 palabras — < 1%
14	<a href="http://colposdigital.colpos.mx:8080">colposdigital.colpos.mx:8080</a> Internet	35 palabras — < 1%
15	<a href="http://search.scielo.org">search.scielo.org</a> Internet	35 palabras — < 1%
16	<a href="http://www.ecorfan.org">www.ecorfan.org</a> Internet	33 palabras — < 1%
17	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Internet	31 palabras — < 1%
18	<a href="http://www.revistareder.com">www.revistareder.com</a> Internet	30 palabras — < 1%
19	<a href="http://cybertesis.unmsm.edu.pe">cybertesis.unmsm.edu.pe</a> Internet	28 palabras — < 1%
20	<a href="http://www.tdx.cat">www.tdx.cat</a> Internet	28 palabras — < 1%

21	Lázaro J. Ojeda Quintana, Consuelo Hernández Rodríguez, Anaisa López Melian, Celso Frómeta Milanés. "Evaluación de diferentes sustratos enriquecidos con microorganismos para la producción de compost en áreas naturales", Temas Agrarios, 2020 Crossref	26 palabras — < 1%
22	repositorio.uta.edu.ec Internet	24 palabras — < 1%
23	es.scribd.com Internet	22 palabras — < 1%
24	pt.scribd.com Internet	22 palabras — < 1%
25	repositorio.unapiquitos.edu.pe Internet	22 palabras — < 1%
26	ri.uaemex.mx Internet	21 palabras — < 1%
27	www.slideshare.net Internet	21 palabras — < 1%
28	pesquisa.bvsalud.org Internet	20 palabras — < 1%
29	repositorio.unap.edu.pe Internet	20 palabras — < 1%
30	www.scielo.org.co Internet	20 palabras — < 1%
31	repository.unad.edu.co Internet	19 palabras — < 1%



32	<a href="http://www.medigraphic.com">www.medigraphic.com</a> Internet	19 palabras — < 1%
33	<a href="http://repositorioinstitucional.buap.mx">repositorioinstitucional.buap.mx</a> Internet	17 palabras — < 1%
34	<a href="http://repositorio.inta.gob.ar">repositorio.inta.gob.ar</a> Internet	15 palabras — < 1%
35	<a href="http://issuu.com">issuu.com</a> Internet	14 palabras — < 1%
36	<a href="http://www.redalyc.org">www.redalyc.org</a> Internet	13 palabras — < 1%
37	<a href="http://eprints.uanl.mx">eprints.uanl.mx</a> Internet	12 palabras — < 1%
38	<a href="http://repositorio.ug.edu.ec">repositorio.ug.edu.ec</a> Internet	12 palabras — < 1%
39	<a href="http://repositorio.uniandes.edu.co">repositorio.uniandes.edu.co</a> Internet	12 palabras — < 1%
40	<a href="http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co">repositoriodspace.unipamplona.edu.co</a> Internet	12 palabras — < 1%
41	<a href="http://www.smcsmx.org">www.smcsmx.org</a> Internet	12 palabras — < 1%
42	Jorge Ernesto Guevara Vásquez, Fernando Demetrio Carcelén Cáceres, Teonila Doria García Zapata. "Comportamiento productivo de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> L.) en crecimiento suplementados con prebióticos y probióticos naturales", <i>Ciencia &amp; Tecnología Agropecuaria</i> , 2021 Crossref	11 palabras — < 1%

43	<a href="http://ciep.ing.uaslp.mx">ciep.ing.uaslp.mx</a> Internet	11 palabras — < 1%
44	<a href="http://doczz.es">doczz.es</a> Internet	11 palabras — < 1%
45	<a href="http://ojs.brazilianjournals.com.br">ojs.brazilianjournals.com.br</a> Internet	11 palabras — < 1%
46	<a href="http://repository.unimilitar.edu.co">repository.unimilitar.edu.co</a> Internet	11 palabras — < 1%
47	<a href="http://ricaxcan.uaz.edu.mx">ricaxcan.uaz.edu.mx</a> Internet	11 palabras — < 1%
48	<a href="http://ru.dgb.unam.mx">ru.dgb.unam.mx</a> Internet	11 palabras — < 1%
49	<a href="http://salinas.uaslp.mx">salinas.uaslp.mx</a> Internet	11 palabras — < 1%
50	<a href="http://www.ptolomeo.unam.mx:8080">www.ptolomeo.unam.mx:8080</a> Internet	11 palabras — < 1%
51	<a href="http://www.scielo.org.ar">www.scielo.org.ar</a> Internet	11 palabras — < 1%
52	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Internet	11 palabras — < 1%
53	<a href="http://www.universidadpersonal.net">www.universidadpersonal.net</a> Internet	11 palabras — < 1%
54	<a href="http://46cnscs.cinvestav.mx">46cnscs.cinvestav.mx</a> Internet	10 palabras — < 1%

55	<a href="http://dspace.espoch.edu.ec">dspace.espoch.edu.ec</a> Internet	10 palabras — < 1%
56	<a href="http://repositorio.uaaan.mx">repositorio.uaaan.mx</a> Internet	10 palabras — < 1%
57	<a href="http://repositorio.usm.cl">repositorio.usm.cl</a> Internet	10 palabras — < 1%
58	<a href="http://revistas.censa.edu.cu">revistas.censa.edu.cu</a> Internet	10 palabras — < 1%
59	<a href="http://static1.squarespace.com">static1.squarespace.com</a> Internet	10 palabras — < 1%
60	<a href="http://www.archivos.ujat.mx">www.archivos.ujat.mx</a> Internet	10 palabras — < 1%
61	<a href="http://www.bioline.org.br">www.bioline.org.br</a> Internet	10 palabras — < 1%
62	<a href="http://www.ilustrados.com">www.ilustrados.com</a> Internet	10 palabras — < 1%
63	<a href="http://www.unavarra.es">www.unavarra.es</a> Internet	10 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

DESACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 10 PALABRAS

## Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 29 de agosto de 2024.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTORAS en la producción, creación y/o realización de la obra denominada **“Evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante la biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)”**. Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

### COLABORADORES



Susana Isabel Torres Andrade



Dr. Ildefonso Jesús Díaz Ramírez



Janeth Monserrat Contreras Capetillo



Dra. Erika Escalante Espinosa

### TESTIGOS



MISA. Elizabeth Magaña Villegas



M. en C. José Aurelio Sosa Olivier

Susana Isabel Torres Andrade

**DEDICATORA**

*A mis padres Guadalupe e Isabel Cristina, a mi hermana Mariel, a mi familia y a todos los que creyeron que podría lograrlo, ¡Gracias!*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

Janeth Monserrat Contreras Capetillo

## DEDICATORIA

*A mi papá Mario Alberto por haber sido mi guía en la vida y ser mi ángel en todo momento.*

*A mi mamá Martha Yaneth por todo su apoyo y amor incondicional.*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## AGRADECIMIENTOS

### **A mis padres Guadalupe e Isabel Cristina:**

Papá, no tengo otra palabra que decirte más que “¡Gracias!”, gracias por tu apoyo incondicional, gracias por tus cuidados y gracias por tu infinito amor, Dios me bendijo enormemente con un padre como tú. Mamá, yo sé que estarías celebrando conmigo este logro si el cielo no estuviera tan lejos, eres y siempre serás un gran ejemplo para mí.

### **A mi hermana Mariel:**

Gracias hermana por todo tu apoyo, por alegrarte con mis logros como si fueran los tuyos y alentarme a alcanzar mis objetivos, eres mi compañera incondicional en la vida y mi motor más grande.

### **A mi familia:**

A ustedes que me han acompañado siempre, que son mi más grande tesoro, les dedico este gran logro para mí ya que día a día me animaron a lograr lo que hoy se consuma. Con todo mi cariño, gracias.

### **A mis amigos:**

A Isabel, mi mejor amiga, que desde la lejanía me apoyó y nunca dudó en que yo podía completar esta meta.

Mi teamlab: Jenny, Fati, Beto, Aldair, Saul, Monse, gracias por hacer mis días de estrés mucho más llevadero con sus risas, en ustedes encontré un equipo que nunca pensé tener, en especial Pau, mi mentora en el lab, gracias, Pau por toda tu paciencia para conmigo en toda esta travesía. Los quiero mucho.

A Lalo, Monse y Ana, su amistad es de las mejores cosas que me pudo dejar la universidad, gracias por estar conmigo tantos años, los quiero mucho.

### **A mis directores de tesis Dr. Idefonso Diaz y Dra. Erika Escalante:**

Muchas gracias por el apoyo y los conocimientos que me pudieron transmitir en toda esta travesía, así como el esfuerzo para que esto se consumara.

Y, por último, pero no menos importante, a Janeth, mi compañera en esta travesía y mi apoyo más grande para que esto se consumara, tú y yo sabemos todo lo que nos costó llegar a este punto. Que felicidad me da celebrar este logro contigo.

## AGRADECIMIENTOS

*A mamá y a papá, por enseñarme lo que es el amor incondicional, por darme fortaleza en los días malos. Gracias, eternamente gracias, por convertirme en la mujer que soy, por darme todo lo bonito que tengo en mi vida. Mamita, admiro la mujer que eres, eres mi ejemplo a seguir y mi motivación más grande. Papito, que fortuna tiene el cielo de tenerte, pero no es algo que impida que formes parte de mí, aunque no estés físicamente a mi lado. Los amo.*

*A mis hermanos: Zule, Adan y Beto, por sus consejos de hermanos mayores, porque a pesar de que somos adultos me siguen cuidando como su hermanita pequeña. Gracias por sus motivaciones y tantas platicas de aliento que me han dado para verme alcanzar mis objetivos.*

*A mis sobrinos: Camila y Dylan, por ser las curitas de mi corazón. A pesar de que ya han crecido, para mí, siempre serán mis bebés. Gracias por sacarme cada sonrisa, por su amor, por sus cartitas, por motivarme a hacer una mejor persona y tía/madrina para ustedes.*

*A Heber, por estar a mi lado en todo momento, por cada motivación que me diste para seguir adelante cuando sentía que no podía. Gracias por escucharme en mis mil versiones de estrés, enojo, preocupación y tristeza, además de acompañarme en fines de semana a la universidad para ver el proceso del proyecto, sin importar que fueran las seis de la mañana. Te amo.*

*A mi team: Lalo, Susi, Monse y Ana. Toda la etapa de carrera universitaria fue mejor gracias a ustedes. Gracias por regalarme la amistad más bonita y leal que considero tener en mi vida, por compartir grandes momentos que se convirtieron grandes recuerdos en nuestras vidas.*

*A Lalo, por escucharme siempre, por tus consejos tan sinceros y divertidos, por compartir mis logros y sentirlos tuyos. Gracias por ser el mejor amigo leal y sincero que necesitaba en mi vida.*

*A mis amigos de laboratorio: Jenni, Beto, Fátima, Saúl, Aldair, Monse, por su apoyo en el laboratorio, por cada risa, cada desayuno señorial que tuvimos y por hacer ameno los días de la realización de la tesis.*

*A mi director y co-directora de tesis: Dr. Ildelfonso Díaz y Dra. Erika Escalante por el tiempo dedicado a este proyecto y por los conocimientos que me brindaron durante mi carrera universitaria.*

*A mi amiga y compañera de tesis, Susi, por sumarse a esta grande aventura y desafío que compartimos juntas llamada tesis, por brindarme la motivación que me hacía falta en mis días oscuros y por el apoyo tanto físico como emocional. Gracias por ser una gran amiga y compartir este logro importante para nosotras.*



## AGRADECIMIENTOS A LA UJAT

*Este trabajo de investigación forma parte del proyecto: "Inoculantes microbianos aplicables a la biorremediación: desarrollo y optimización para su uso en suelos contaminados con hidrocarburos" (Proyecto No. 20210039), registrado en la Convocatoria de Proyectos de Apoyo Institucional 2021. Las estudiantes Janeth Monserrat Contreras Capetillo y Susana Isabel Torres Andrade participaron como Tesistas vinculadas al proyecto.*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>22</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>24</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>26</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>29</b>
2.1. Hidrocarburos.....	30
2.1.1. Biodegradación de los hidrocarburos.....	30
2.1.2. Monitoreo del proceso de biorremediación.....	31
2.1.3. Técnicas de respirometría.....	31
2.1.4. Efectos en el suelo.....	31
2.2. Bioaumentación.....	31
2.3. Co-compostaje.....	32
2.3.1. Diseño.....	33
2.3.2. Ventajas y desventajas.....	33
2.4. Lirio acuático ( <i>Eichhornia crassipes</i> ).....	34
2.4.1. Utilidad de la especie.....	34
2.4.2. Reproducción.....	34
2.4.3. Impactos ambientales.....	34
2.4.4. Áreas de oportunidad.....	35
2.4.5. Condiciones óptimas de tolerancia.....	35
2.5. Actividad enzimática lipasa.....	35
<b>3. ANTECEDENTES</b> .....	<b>37</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>41</b>
<b>5. OBJETIVOS E HIPÓTESIS</b> .....	<b>44</b>
5.1. Objetivo general.....	45
5.2. Objetivos específicos.....	45
5.3. Hipótesis.....	45
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>46</b>
6.1. Estrategia experimental.....	47
6.1.1. Recolecta de suelo no contaminado y lirio acuático.....	48
6.1.2. Preparación del inoculante bacteriano.....	48
6.1.3. Ensayo de evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano sobre su remoción de hidrocarburos durante el co-compostaje con lirio acuático.....	50

6.2.	Análisis fisicoquímicos.....	51
6.2.1.	Potencial de hidrógeno (pH) y conductividad eléctrica (CE).....	51
6.2.2.	Extracción de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP).....	51
6.2.3.	Capacidad de campo .....	52
6.2.4.	Densidad aparente.....	52
6.2.5.	Densidad real.....	52
6.3.	Análisis microbiológicos.....	52
6.3.1.	Cuantificación de microorganismos heterótrofos del suelo.....	52
6.3.2.	Cuantificación de microorganismos degradadores.....	53
6.4.	Análisis respirométricos.....	53
6.5.	Determinación de la actividad de la enzima lipasa.....	54
6.6.	Análisis estadísticos .....	54
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>56</b>
7.1.	Caracterización fisicoquímica del suelo.....	57
7.2	Ensayo de evaluación del desempeño del inoculante bacteriano inmovilizado en diferentes niveles de concentración de hidrocarburos durante el co-compostaje.....	59
7.2.1	Estimación del pH y conductividad eléctrica del suelo .....	59
7.3	Actividad de la enzima lipasa en función de la presencia del inoculante inmovilizado y diferentes concentraciones de hidrocarburos. ....	60
7.4	Remoción de hidrocarburos totales de petróleo y biodegradación .....	61
7.5	Análisis microbiológicos: Microorganismos heterótrofos totales y degradadores .....	64
7.6	Mineralización de hidrocarburos durante el co-compostaje y bioaumentación de suelo contaminado en presencia de diferentes niveles concentración de hidrocarburos totales de petróleo. ....	66
7.6.1	Coefficiente respiratorio.....	69
<b>8.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>71</b>
<b>9.</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>74</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXOS.....</b>	<b>83</b>
10.1.	Productos derivados del proyecto.....	83
10.2.	Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional.....	85

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrategia experimental.....	47
<b>Figura 2.</b> Recolección de suelo no contaminado y lirio acuático.....	48
<b>Figura 3.</b> Preparación del Cultivo Mixto Definido (CMD) .....	49
<b>Figura 4.</b> Preparación de unidades experimentales .....	51
<b>Figura 5.</b> Extracción de hidrocarburos.....	51
<b>Figura 6.</b> Determinación de microorganismos heterótrofos en microplacas.....	53
<b>Figura 7.</b> Determinación de actividad enzima lipasa.....	54
<b>Figura 8.</b> Comportamiento del pH (Panel A) y conductividad eléctrica (Panel B).....	60
<b>Figura 9.</b> Actividad de la enzima lipasa .....	61
<b>Figura 10.</b> Cinética de remoción de hidrocarburos totales de petróleo (Panel A) y biodegradación (Panel B) .....	62
<b>Figura 11.</b> Cinética de crecimiento de microorganismos heterótrofos (Panel A) y de degradadores (Panel B).....	65
<b>Figura 12.</b> Tasas de producción de CO <sub>2</sub> .....	68
<b>Figura 13.</b> Tasa de consumo de O <sub>2</sub> .....	69
<b>Figura 14.</b> Coeficiente respiratorio.....	70

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Resultados de parámetros de la caracterización fisicoquímica del suelo no contaminado (SNC) y de la mezcla de suelo no contaminado con lirio acuático (SNC + L).....	57
<b>Tabla 2.</b> Parámetros cinéticos durante el proceso de co-compostaje con el inoculante inmovilizado en presencia de diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000 mg kg <sup>-1</sup> ) y una relación C/N de 15 después de 20 días de cultivo.....	63
<b>Tabla 3.</b> Contenido de microorganismos heterótrofos totales y de degradadores (hexadecano, 17,000 mg kg <sup>-1</sup> ) durante el proceso de co-compostaje con el inoculante inmovilizado en presencia de diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000 mg kg <sup>-1</sup> ) y una relación C/N de 15, al inicio y a los 15 días de cultivo.....	66

## **RESUMEN**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

En el presente trabajo se evaluó el desempeño de un inoculante bacteriano inmovilizado durante su aplicación en un sistema de biorremediación de suelo artificialmente contaminado por co-compostaje en presencia de lirio acuático a diferentes concentraciones de hidrocarburos (15 000, 25 000 y 35 000 mg kg<sup>-1</sup>). Se analizaron diferentes parámetros como el contenido de hidrocarburos residuales por el método de Soxhlet (EPA 3540); la actividad de la enzima lipasa por el método espectrofotométrico ( $\lambda=405$  nm, Margesin *et al.* 2005); el número de microorganismos heterotróficos totales y degradadores de hexadecano; el consumo de O<sub>2</sub> y la producción de CO<sub>2</sub> durante el cultivo para cada uno de los tratamientos mediante un sistema semiautomatizado de respirometría y se calcularon parámetros cinéticos vinculados a la biodegradación y el coeficiente respiratorio durante el ensayo. El monitoreo se llevó a cabo durante 18 a 25 días para los diferentes parámetros. Los resultados mostraron que la actividad lipasa acumulada durante el ensayo se incrementó de forma lineal con respecto a la concentración, con máximos de 451.05UE y 852.24UE a los 15 días de cultivo (15 y 25 g kg<sup>-1</sup>). De igual manera, para microorganismos degradadores, se obtuvieron incrementos en cada tratamiento en el día 15 con un 4% para SC 15 – LI, 20% para SC 25 – LI con el valor más alto de incremento para este tiempo, y finalmente, un 15% para SC 35-LI. La eficiencia de biodegradación del inoculante presentó una correlación positiva con respecto a la concentración siendo de entre 28 a 37% a los 20 días de cultivo. La tasa de mineralización (mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) debida a la actividad microbiana presentó el valor más alto para el suelo contaminado a 35 000 mg kg<sup>-1</sup> con 206.4 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, lo cual coincide con la tasa de consumo de O<sub>2</sub> más alta con un valor de 818.5 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> para ese mismo tratamiento. La presencia del inoculante permitió alcanzar tasas de consumo máximas de 1,200 a 2,400 mg de hidrocarburos kg<sup>-1</sup> de suelo d<sup>-1</sup>. La cinética de consumo de hidrocarburos se ajustó a un modelo de primer orden, a partir del cual se obtuvieron valores de tiempo de vida media de 31 a 35 días para el intervalo de concentraciones probadas.

Con base en los valores positivos obtenidos en los diferentes parámetros (altos niveles de actividad lipasa, biodegradación y mineralización), el inoculante bacteriano resultó eficiente en el intervalo de las concentraciones experimentales probadas. Lo cual permite inferir que su aplicación es una estrategia viable para la remediación biológica en suelos altamente contaminados por hidrocarburos totales de petróleo.

# **ABSTRACT**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



In the present work, the performance of an immobilized bacterial inoculant was evaluated during its application in a bioremediation system of artificially contaminated soil by co-composting in the presence of hyacinth water at different hydrocarbon concentrations (15 000, 25 000 and 35 000 mg kg<sup>1</sup>). Different parameters such as residual hydrocarbon content were analyzed like the residual hydrocarbons by the Soxhlet method (EPA 3540); the activity of the enzyme lipase by the spectrophotometric method ( $\lambda = 405$  nm, Margesin *et al.* 2005); the number of heterotrophic total and hexadecane-degrading microorganisms; the O<sub>2</sub> consumption and CO<sub>2</sub> production during the cultivation for each of the treatments using a semi-automated respiration system kinetic parameters linked to biodegradation and the respiratory coefficient during the test were calculated. Monitoring was carried out for 18 to 25 days for the different parameters. The results showed that the accumulated lipase activity during the assay increased linearly with respect to concentration, with maxima of 451.05UE and 852.24UE at 15 days of cultivation (15 and 25 g kg<sup>-1</sup>). Similarly, for degrading microorganisms, increases were obtained in each treatment at day 15 with a 4% increase for SC 15 -LI, 20% for SC 25 - LI with the highest value of increase for this time, and finally, 15% for SC 35-LI. The biodegradation efficiency of the inoculant showed a positive correlation with respect to the concentration, ranging from 28 to 37% after 20 days of cultivation. The mineralization rate (mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) due to microbial activity presented the highest value for the contaminated soil at 35 000 mg kg<sup>-1</sup> with 206.4 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, which coincides with the highest O<sub>2</sub> consumption rate with a value of 818.5 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> for the same treatment. The presence of the inoculant allowed reaching maximum consumption rates of 1,200 to 2,400 mg of hydrocarbons kg<sup>-1</sup> soil d<sup>-1</sup>. The kinetics of hydrocarbon consumption was adjusted to a first-order model, from which half-life values of 31 to 35 days were obtained for the range of concentrations tested.

Based on the positive values obtained in the different parameters (high levels of lipase activity, biodegradation and mineralization), the bacterial inoculant was efficient in the range of experimental concentrations tested. This allows inferring that its application is a viable strategy for biological remediation in soils highly contaminated by total petroleum hydrocarbons.

# **INTRODUCCIÓN**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

Con el inicio de la revolución industrial, el mundo tuvo un crecimiento paulatino y constante en las industrias y las tecnologías necesarias para llevarlas a cabo. Al inicio los beneficios obtenidos de la industrialización eran mayores que las desventajas que esto provocaba, pero con el paso del tiempo, los problemas ambientales se hicieron presentes con impactos en el medio y la salud humana (Quispe *et al.*, 2017). Uno de los principales causantes de la contaminación de suelos y aguas, así como del desbalance en la estructura y proceso natural dentro de un ecosistema son los derrames por hidrocarburos. Dichos hidrocarburos componen el petróleo crudo, el cual ha tenido un impacto en la sociedad con la implementación de nuevas industrias y el desarrollo de diversas actividades humanas, dándole usos como el recurso hidrocarburífero empleado mundialmente como un estándar energético (Vargas, 2020). Como desventaja, los hidrocarburos llegan a ser nocivos para la salud de plantas, animales y humanos por su alta toxicidad y su compleja degradación; afectando algunos bioprocesos realizados por las poblaciones microbianas presentes, los cuales son de gran importancia para los procesos biogeoquímicos que se llevan a cabo en la biota (Nagkirti, *et al.* 2017; Pandolfo *et al.*, 2023).

En México, la industria petrolera ha generado un severo impacto al ambiente de manera que repercute adversamente en los diversos ecosistemas, esto debido a la variedad de productos derivados del petróleo y sitios afectados. Esta cifra se ha incrementado a través del tiempo ya que de 2018 a 2021 Petróleos Mexicanos (Pemex) registró 176 derrames y fugas en escala moderada y grave, donde a Tabasco y Veracruz le correspondieron el 63% de los incidentes (Ramírez, 2022). La contaminación generada por hidrocarburos se reconoce como un problema desde hace varias décadas; sin embargo, recientemente adquirió mayor relevancia el efecto perjudicial (toxicidad) hacia el ambiente y el riesgo que representan sus efectos hacia la sociedad, además de que el costo para remediar los suelos y cuerpos de agua contaminados es alto (Ortíz *et al.*, 2003; Qiao *et al.*, 2021).

Un problema ambiental de interés también creciente es la proliferación de especies de hidrófitas en cuerpos de agua superficial. El lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) es una especie de la familia Pontederiaceae, la cual es originaria de sudamérica (Patel, 2012). Esta especie, considerada como invasora, es de gran importancia para la vida acuática ya que permite el resguardo y alimentación de especies presentes como peces y macroinvertebrados (Villamagna y Murphy, 2010). La velocidad de crecimiento natural del lirio es de elevada, registrándose hasta dos millones de especímenes por hectárea, pudiendo alcanzar un peso de hasta 400 toneladas (Tovar-Jiménez *et al.*, 2017). Su presencia excesiva repercute negativamente en los ecosistemas acuáticos (Ej. lagos, pantanos, ríos) al disminuir considerablemente el paso de la luz solar, provocando que los procesos de fotosíntesis que se llevan a cabo en la flora acuática se vean

interrumpidos, así como también, que se reduzca el oxígeno disuelto en el agua; lo que es perjudicial para diversos organismos acuáticos (Epstein, 1998; Humphrey & Dube, 2018). Por otra parte, el lirio posee propiedades que son de gran interés en el campo de la biotecnología, aprovechándose para generar productos, provenientes de la biomasa del lirio, tales como abono orgánico, bioles y biogás; también, el lirio se ha utilizado como medio de fitorremediación para aguas residuales, principalmente para la remoción de organofosforados siendo así una alternativa sustentable y eficaz (Tovar-Jiménez *et al.*, 2019; Rodríguez *et al.*, 2022). Sin embargo, para que la planta remueva con éxito los contaminantes, se debe tomar en cuenta el grado de contaminación, la disponibilidad del metal para su absorción y la interacción de la planta con su hábitat (Rai, 2009).

El compostaje es la degradación aeróbica controlada de residuos orgánicos o diferentes materias primas, por ejemplo, residuos agroindustriales, domésticos y lodos fecales (Tilley *et al.*, 2018) El producto obtenido puede ser aprovechado en la agricultura para mejorar los suelos o para el tratamiento de residuos sólidos, en cuyo caso entre otros beneficios tiene la reducción del metano que se produce en algunos sitios de disposición final de residuos municipales, siendo de importancia en la mitigación de los flujos de CH<sub>4</sub> a la atmósfera (Kawai *et al.*, 2020).

Una variante a este proceso es el co-compostaje, en el cuál materias primas usadas en el compostaje se mezclan con suelos contaminados con compuestos orgánicos como hidrocarburos y plaguicidas permitiendo su remoción (Beaudin *et al.*, 1996). Chilon & Chilon (2015) evaluaron el comportamiento de diferentes tratamientos de compost con diferentes activadores (caldo humus, fermento local, yogurt, leche y levadura) bajo las condiciones ambientales de la temporada de frío y temporada cálida, así como el efecto del compost en la remediación biológica de suelos contaminados. Esta estrategia de remediación combinada con la adición de microorganismos exógenos (bioaumentación) se ha probado como una alternativa para el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos (Angelito-García *et al.*, 2018, Notario-Acosta *et al.*, 2018); sin embargo, su aplicación usando lirio acuático como acondicionador orgánico a altas concentraciones y un inoculante estandarizado durante el co-compostaje no se ha evaluado.

Considerando lo anterior, el presente trabajo tiene por objetivo evaluar el desempeño de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante su aplicación en un sistema de biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático.

## **2. MARCO TEÓRICO**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 2.1. Hidrocarburos

Vilchez & Ulloa (2015) definieron a los hidrocarburos como compuestos químico-orgánicos formados a partir de la combinación del carbono (C) con el hidrógeno (H), e incluyen los diferentes estados de la materia: gases, líquido, semisólido y sólido, que se encuentran en la superficie terrestre, o gases y líquidos en formaciones geológicas en el subsuelo. Mientras que Velázquez (2017) menciona que por su composición son compuestos orgánicos susceptibles a la biodegradación, donde se eliminan o se transforman en sustancias menos tóxicas tanto en suelos como en aguas contaminadas; permitiendo realizar análisis para diseños estratégicos que contribuyan a su degradación y, por lo tanto, con la descontaminación de los suelos y los cuerpos de agua.

Se ha observado que el comportamiento de los hidrocarburos en el suelo depende principalmente de tres factores claves: el primero es el tipo de hidrocarburo, el segundo el tipo de suelo y el tercero las condiciones del ambiente. Varios estudios reportados coinciden que en los suelos donde se retiene mayor contenido de hidrocarburos, con el paso del tiempo, se tornan hidrofóbicos debido a la conversión de las fracciones de más fácil degradación a aquellas con estructura más complejas. Referente a esto, en un estudio realizado en dos áreas, la primera en Jalpa de Méndez, Tabasco, las concentraciones de los componentes polares incrementaron en el suelo aluvial seleccionado; en comparación con el suelo lomerío situado en Macuspana, Tabasco, donde se disminuyeron dichos componentes (Alegría *et al.*, 2019).

### 2.1.1. Biodegradación de los hidrocarburos

Una estrategia que se puede llevar a cabo para reducir el impacto ambiental causado por la contaminación es la biorremediación; la cual, Ordoñez *et al.* (2018) describe como una biotecnología emergente que explota la capacidad metabólica de los microorganismos en el proceso (biodegradación), como las levaduras, las bacterias, los hongos, las microalgas, también de las plantas y de los sistemas biológico para degradar, transformar o producir subproductos menos tóxicos. Fundamentalmente, la biorremediación permite acelerar los procesos biodegradativos que ocurren naturalmente en los ecosistemas contaminados.

La biodegradación de los hidrocarburos de petróleo derramados es de gran importancia, ya que disminuye el impacto ambiental negativo ocasionado; una de las vías más utilizadas para lograr la biodegradación es la remediación biológica o biorremediación (Contreras & Carreño, 2018). Evaluando suelos entre un derrame simulado reciente y otro, a tres meses, Alegría *et al.*, (2019) pudieron concretar que un factor determinante en la degradación, conversión o lixiviación de los hidrocarburos es el tipo de suelo, donde este es esencialmente una función sobre las propiedades de este, como la retención de agua y la compactación del suelo

### **2.1.2. Monitoreo del proceso de biorremediación**

El proceso de biorremediación se puede monitorear mediante medidas directas e indirectas. Las medidas directas determinan la concentración de hidrocarburos y su disminución con el tiempo; mientras que las medidas indirectas determinan la bioconversión de hidrocarburo, el consumo de aceptores de electrones (AE), producción de CO<sub>2</sub>, aumento de biomasa por mencionar el recuento de degradadores y también los cambios de pH (Barrios-Ziolo *et al.*, 2015).

### **2.1.3. Técnicas de respirometría**

De acuerdo con Barrios-Ziolo *et al.*, (2015), la respirometría incluye técnicas que cuantifican el consumo de total de oxígeno para la fase de adaptación de microorganismos y la producción de CO<sub>2</sub> u otros gases producto de la mineralización, lo que permite evaluar el crecimiento microbiano y el metabolismo activo durante la degradación de los contaminantes.

### **2.1.4. Efectos en el suelo**

Un factor decisivo en el impacto potencial de los hidrocarburos es la textura del suelo, es decir, la proporción de partículas como arenas, limos o arcillas (Barrios-Ziolo *et al.*, 2015).

La contaminación causada por hidrocarburos conduce a cambios en las propiedades fisicoquímicas del suelo mencionando su permeabilidad, contenido de humedad, disminución de pH, la conductividad eléctrica, entre otras. Estos cambios reducen la diversidad de la comunidad bacteriana en su estructura funcional. Además, ocurre una restricción de la diversidad funcional (Pandolfo *et al.*, 2023). Mencionando como efecto de los hidrocarburos sobre la fertilidad a través de mecanismos, se encuentra la toxicidad directa en los microorganismos en el suelo, reducción en la retención de agua y/o nutrientes, compactación y salinidad. Los hidrocarburos de petróleo, tanto alifáticos como aromáticos, varían en toxicidad, siendo generalmente más tóxicos los de pesos moleculares más bajos (Velázquez, 2017).

## **2.2. Bioaumentación**

La bioaumentación es la técnica para mejorar la capacidad de una matriz contaminada (suelo u otro biotopo) contribuyendo en la eliminación de la contaminación mediante la introducción de cepas competentes específicas o consorcios de microorganismos; el enfoque de esta técnica es aumentar las capacidades metabólicas de la microbiota presente en el suelo (Omokhagbor *et al.* 2015). La bioaumentación busca producir un aumento en el acervo genético y por lo tanto en la diversidad genética de la comunidad microbiana del suelo, a través de la inoculación de células individuales o consorcios microorganismos estandarizados que poseen genes degradadores que

pueden ser transferidos a la microflora autóctona y microorganismos rizosféricos (Nagkirti *et al.*, 2017).

Varios autores consideran que la bioaumentación debe aplicarse cuando la atenuación natural y la bioestimulación han fallado. Esto se debe a varias razones, las principales son: el número bajo o no detectable de microbios degradadores con respecto al contaminante a degradar, la presencia de compuestos o mezclas de compuestos que requieren varias rutas metabólicas las cuales operan simultáneamente con intermediarios metabólicos, cuya toxicidad para los microbios autóctonos puede ser alta y, por último, algunas áreas contaminadas que requieren un largo período de adaptación microbiana que justifique la bioaumentación del suelo (Lebeau, 2011; Nagkirti *et al.*, 2017).

Los inóculos bacterianos promueven el incremento en la eficiencia de biodegradación en suelos contaminados con hidrocarburos; esta eficiencia del bioproceso incrementa proporcionalmente con la concentración del inóculo, siendo esto último de suma importancia como parte del diseño del proceso de degradación (Otiniano *et al.*, 2022) La utilización de preparados microbianos (inóculos) como aceleradores de la degradación de la materia orgánica en el compostaje es una práctica que ha sido implementada en diversos sistemas agropecuarios alrededor del mundo y en el manejo de desechos orgánicos. Como parte de un sistema de compostaje, el inóculo microbiano debe garantizar la constitución de agregados significativos en número, para producir una bioaumentación, así como la reducción del tiempo de formación y maduración del compost (Medina *et al.*, 2018).

### **2.3. Co-compostaje**

El co-compostaje es la degradación aeróbica controlada de compuestos orgánicos la cual utiliza más de una materia prima, por ejemplo, residuos sólidos orgánicos y lodos fecales. El lodo fecal tiene un alto contenido de humedad y nitrógeno, en cambio los desechos sólidos biodegradables tienen un alto contenido de carbono orgánico y también buenas propiedades de carga, es decir, que el aire pueda fluir y circular sin obstrucciones. Al combinar ambas propiedades, los beneficios que conllevan individualmente se pueden optimizar tanto para el proceso como para el producto (Tilley *et al.*, 2018).

Existen dos tipos de diseño para el co-compostaje: abierto y cerrado. En el co-compostaje abierto, el material mezclado (lodos y residuos sólidos) se coloca en hileras para dejar que se efectúe el proceso de descomposición. Las pilas formadas se giran periódicamente para que el oxígeno pueda fluir, de manera que todas las partes implicadas mantengan el mismo tratamiento térmico. En el co-compostaje cerrado (o en vaso) se necesita control de humedad, suministro de



aire y una mezcla mecánica. A pesar de que el proceso de compostaje parece una simple y pasiva tecnología, para que este funcione de manera adecuada se necesita una instalación con una buena planificación y diseño con el que se puedan prevenir y evitar futuras fallas (Tilley *et al.*, 2018).

### **2.3.1. Diseño**

La ubicación de la instalación debe estar cerca de las fuentes principales de desechos orgánicos y lodos fecales para minimizar los costos de transporte, tomando en cuenta que también deben estar lejos de hogares y negocios para minimizar las molestias. Dependiendo del clima y del espacio que se tenga a disposición, la instalación puede estar cubierta para evitar el exceso de evaporación y como protección contra la lluvia y el viento. En el caso de los lodos, se debe utilizar una proporción de 1:2 a 1:3 entre la fase de lodos a residuos sólidos. En cambio, el lodo líquido debe ser utilizado en una proporción de 1:5 a 1:10 de lodo a residuo sólido (Tilley *et al.*, 2018). Las hileras deben tener al menos 1 m de altura y estar aisladas con compost o tierra para promover una distribución uniforme de calor dentro de la pila (Tilley *et al.*, 2018).

### **2.3.2. Ventajas y desventajas**

Según Tilley *et al.*, (2018) hay ventajas y desventajas en el uso del co-compostaje, las cuales se presentan a continuación:

#### **2.3.2.1. Ventajas**

- Fácil configuración con el mantenimiento adecuado.
- Generación de un recurso valioso que puede mejorar la agricultura y producción de alimentos.
- Su construcción es accesible, con materiales normalmente fáciles de conseguir.
- Bajos costos de inversión y operación.
- Bajo consumo de energía eléctrica.
- Fácil adaptación a las condiciones propias del lugar donde se realice.

#### **2.3.2.2. Desventajas**

- Requiere de áreas amplias para su operación.
- Requiere diseños especiales operados.
- Puede requerir mano de obra intensiva.
- Deben considerarse los costos de transporte

## **2.4. Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)**

De acuerdo con Guevara & Ramírez (2015) el lirio acuático es una planta acuática perenne originaria de Brasil, la cual es implementada como especie para los estanques; dicha especie se caracteriza por ser una de las 10 malezas más invasivas del mundo, distribuyéndose en varios países del mundo. Es altamente reproductiva y adaptable en el medio donde se encuentre, afectando negativamente a la flora y fauna autóctona.

### **2.4.1. Utilidad de la especie**

Desde su introducción como planta ornamental para jardines acuáticos en varias partes del mundo, esta maleza invasiva que se extiende de manera significativa, se puede controlar su reproducción en humedales artificiales como la mejor alternativa por las amenazas ocasionadas en ecosistemas naturales. (Guevara & Ramírez, 2015).

### **2.4.2. Reproducción**

Ocurre en condiciones vegetativas a través de la producción de estolones, pero también puede ocurrir a través de semillas con baja cantidad referente a la germinación. El agua rica en nutrientes, especialmente por nitrógeno, fósforo y potasio, favorece el crecimiento de *E. crassipes*. Además, se nutre de calcio, magnesio, azufre, hierro, manganeso, aluminio, boro, cobre, molibdeno y zinc. Debido a su alta capacidad de reproducción, la biomasa del lirio acuático puede duplicarse en un mes debido a su propagación vegetativa (Guevara & Ramírez, 2015).

### **2.4.3. Impactos ambientales**

Los estudios sobre los impactos del lirio acuático en la calidad del agua se han centrado en las consecuencias de las densas capas formadas al entrelazar plantas individuales. Los impactos formados con mayor frecuencia son la reducción de la productividad del fitoplancton y las concentraciones de oxígeno disuelto debajo de estas esteras. De la misma manera, el lirio afecta el flujo de agua y evita que la luz solar llegue a las plantas acuáticas nativas, lo que provoca una caída en los niveles de oxígeno, cambios en la estructura y función del ecosistema y la interrupción de la cadena alimentaria y el ciclo de nutrientes (Rodríguez *et al.*, 2022).

Cierto es que una de las mayores consecuencias que causa el lirio acuático es la eutrofización, la cual abarca aproximadamente un 41% de los lagos de Sudamérica causando un problema en ellos (Guevara & Ramírez, 2015). Haciendo referencia a un problema de tipo socioambiental que causa esta especie acuática es que almacena larvas de mosquito, lo que provoca afectaciones económicas, sociales y también afectaciones ecológicas; estas provocando una disminución de fuente de alimentos, trabajo, y calidad de vida en la sociedad (Guevara & Ramírez, 2015).

#### **2.4.4. Áreas de oportunidad**

Como se mencionó anteriormente, los estudios indican que el lirio acuático es una especie que plantea múltiples problemas a los ecosistemas, especialmente a aquellos que han sido alterados. Sin embargo, esta especie está siendo investigada por varios grupos alrededor del mundo como fitorremediador. Además, trabajos realizados indican que *E. crassipes* se puede usar para eliminar compuestos organofosforados. En un caso particular, el clorpirifos el cual es un insecticida, fué eliminado lo que demuestra que esta especie invasora podría usarse en beneficio de los ambientes contaminados con metales como zinc, cromo, cobre, cadmio, plomo, mercurio y níquel. Además de colorantes sintéticos, hidrocarburos, pesticidas y solventes clorados (Guevara & Ramírez, 2015).

Por otra parte, esta maleza se considera un recurso con un gran potencial biotecnológico. Su biomasa se ha utilizado para el tratamiento de aguas residuales, la remediación de metales pesados, generación de energía, las industrias, en alimentos humanos y antioxidantes, en la medicina, alimentación animal, la agricultura, la alelopatía y fabricación de productos para el hogar (Rodríguez *et al.*, 2022).

#### **2.4.5. Condiciones óptimas de tolerancia**

El lirio acuático puede tolerar amplias variaciones en la concentración de nutrientes, en la temperatura y en los niveles de pH. El pH óptimo para su desarrollo está en rango entre 6 y 8; aumenta en el rango de temperatura de 1 a 40°C y parece ser sensible a temperaturas con valores menores de 1°C (Rodríguez *et al.*, 2022). Los valores para su crecimiento óptimo son entre 25 y 27.5°C; en comparación a temperaturas superiores a 33°C donde se disminuye su reproducción (Rodríguez *et al.*, 2022).

### **2.5. Actividad enzimática lipasa**

En la biotecnología, la producción y utilización de enzimas es una de las aplicaciones más comunes. Las enzimas son consideradas sustancias diseñadas como biocatalizadores aportando grandes ventajas sobre los catalizadores químicos convencionales, como son su especificidad y selectividad, siendo una característica importante en el proceso de catálisis enzimática, por el hecho de que son catalizadores ópticamente selectivos, trabajando en condiciones de reacción cercanas a las que están en medios fisiológicos, a diferencia de las reacciones químicas comunes (Gomes *et al.*, 2023).

En el grupo de enzimas hidrolíticas se encuentran las enzimas lipasas (triacilglicerol éster hidrolasas: EC. 3.1.1.3) (Gomes *et al.*, 2023). Las enzimas lipasas son proteínas que catalizan

procesos biológicos, trabajan con diferentes sustratos realizando reacciones de síntesis, hidrólisis o de intercambio de grupos. Son versátiles, económicas y menos contaminantes, se extraen en abundancia y se producen con regularidad. Además, son estables y su producción es eficiente y seguro. Se caracterizan por su capacidad para reacciones de acidólisis, alcoholólisis, aminólisis, esterificación, interestificación y transesterificación, etc. (Salazar *et al.*, 2020). Su función biológica es catalizar la hidrólisis de triglicéridos para producir ácidos grasos libres y glicerol o productos intermedios como mono o diglicéridos (Ali *et al.*, 2023). La producción de lipasas a partir de microorganismos depende principalmente de factores ambientales, como la temperatura, el pH, la composición del medio de fermentación, por ejemplo, del contenido de carbono, nitrógeno, concentración de sales inorgánicas, cantidad de oxígeno disuelto. En relación con los factores mencionados, se utiliza habitualmente aproximadamente 30°C como temperatura, un pH neutro y condiciones aerobias; para contenido de carbono suele ser una fuente mixta de un glúcido y un lípido que sea como inductor para la producción de las lipasas; para el nitrógeno se suele utilizar como fuente las sales inorgánicas de amonio o urea (Ali *et al.*, 2023).

Diversas cepas bacterianas son capaces de producir la enzima lipasa; las más notables que han sido investigadas para dicha producción de la enzima son *Bacillus*, *Pseudomonas burkholderia*, *Streptomyces*, *Arthrobacter* y *Archomobacter*, donde interviene el factor de la temperatura para su crecimiento y fisiología de los microbios. A diferencia de las lipasas de origen animal y lipasas de fuentes vegetales, las lipasas microbianas tienen la capacidad de reproducción continua, tienen simplicidad de purificarse, modificación molecular y estabilidad. Además de que poseen una diversidad de aplicaciones y se producen en cantidades grandes en todas las industrias como la textil, alimentos, cosméticos, papel, detergente, etc., esto debido a su capacidad de mejorar sus procesos de producción mediante la biotecnología (Ali *et al.*, 2023).

Para determinación de la actividad de la enzima lipasa es necesario el p-nitrofenol butirato (pNPB) como sustrato. Se procede a incubar las muestras de suelo a 30°C y con pH 7 por 10 minutos. Se realiza enfriamiento en hielo y centrifugación de las muestras, donde el p-nitrofenol que se produce por la hidrólisis del sustrato se determina por medio del espectrofotómetro a 400 nm. Para obtener la actividad catalítica de la lipasa se calcula a través de una curva de calibración preparada con pNP en presencia de suelo expresado en  $\mu\text{g pNP g}^{-1}$  de suelo seco  $10 \text{ min}^{-1}$  (González-Díaz, 2014)

### **3. ANTECEDENTES**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

Uno de los principales ocupantes en los desechos municipales producidos en México es la materia orgánica, cuyo porcentaje de producción es alto. Sin embargo, la materia orgánica tiene grandes aprovechamientos, un ejemplo de estos es la composta, la cual trae beneficios consigo como mejorar las condiciones del suelo y disminuir los impactos ambientales creados por el incorrecto manejo de los desechos. (Kawai *et al.*, 2020). Respecto a esto, Beaudin *et al.*, (1996) expone en un estudio de co-compostaje con residuos de maple y alfalfa, con duración de 172 días, que las sustancias polares se degradaron considerablemente (en un 83%) en comparación con las alifáticas o aromáticas (con un 60 % y 54 % respectivamente). Los autores señalan que la razón del comportamiento atípico de degradación observada puede atribuirse a la biología del entorno del co-compostaje o los cambios en la sorción de los hidrocarburos presentes. Y además concluyen que el co-compostaje mejora la estabilización de los contaminantes al unirse a los ácidos húmicos que se forman en el proceso; por lo que, puede considerarse como una tecnología de biorremediación útil para la remoción de contaminantes recalcitrantes cuando otros métodos (sin adición de carbón orgánico externo) como las biopilas, sean ineficientes.

Bohórquez *et al.*, (2014) realizaron una investigación en la cual se evaluó la calidad del compost elaborado con diferentes combinaciones de subproductos resultantes de la molienda de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*). Los resultados muestran que la relación C/N inicial de las mezclas es primordial para obtener una buena calidad del compost. A su vez, el tiempo estimado de compostaje que propicia una maduración idónea con máximo contenido de nutrientes en el compost fue 90 días. Barleló *et al.*, (2019) llevaron a cabo una investigación que consistió en evaluar un compostaje del lirio acuático y estiércol de borrego mediante un proceso dinámico aerobio aprovechando los microorganismos de los propios sustratos y controlando los parámetros de humedad, temperatura, y pH. La relación C/N que indica el tiempo adecuado en el que se degrada el material durante el proceso de compostaje resultó con una composición de 75% de lirio con 25% de estiércol. Esta relación se analizó mediante una extrapolación en la que se determinó que la relación ideal de C/N era igual a 20, logrando un tiempo de degradación de 152 días y obteniendo un sustrato rico en nutrientes a bajo costo.

En México, el lirio acuático (*E. crassipes*) ha llegado a considerarse como una maleza acuática invasora tanto de ríos como de lagos (Espinoza-Acosta *et al.*, 2022). Por lo que, con el objetivo de darle un aprovechamiento adecuado al lirio, Jiménez *et al.*, (2016) realizaron ensayos orientados al compostaje de lirio acuático y lodo residual, ambos materiales representan problemas ambientales por su difícil control y disposición final. Los resultados obtenidos indicaron que existe una alta resistencia a la biodegradabilidad en el compostaje por parte del lirio acuático, en especial de la raíz. La temperatura no se elevó a los niveles que normalmente se esperan

durante el compostaje, sin embargo, se observó una reducción del carbono de hasta el 15% y de hasta del 30% de nitrógeno, del valor original de la mezcla. Por lo que, se concluyó que una composta realizada a partir de lodo residual, lirio seco y triturado, así como un material de enmienda de fácil biodegradabilidad pueden facilitar la actividad microbiana reflejándose en el aumento de temperatura en el interior de una pila. El compostaje es un método eficiente en la eliminación de residuos, además, contiene una serie de compuestos microbianos que ayudan a que la degradación de la materia orgánica suceda más fácilmente. El uso del inóculo microbiano como acelerador ha tenido opiniones divididas respecto a su efectividad, por lo que, Medina *et al.*, (2018) evaluaron inóculos extraídos en cinco diferentes etapas durante el proceso de compostaje como potenciadores del tiempo de biotransformación de un compost de estiércol de ovino y con paja de avena. Este proceso les dio como resultado que el tratamiento 5, al cual se le añadió inóculo de la última fase del proceso de compostaje, se pudo notar con mejores características finales en comparación con los demás tratamientos evaluados. Por lo tanto, esto implicó una maduración más rápida del compost y, por ende, acelerando el proceso. El inóculo tuvo estrategia que mantuvo activos a los microorganismos, y así, permitió disminuir el tiempo del proceso de compostaje. Respecto a los microorganismos y el CO<sub>2</sub>, entre mayor es la actividad de dichos microorganismos, mayor es la acumulación de CO<sub>2</sub>, además de que, la madurez y la calidad del compost se garantizan cuando se reduce el CO<sub>2</sub>; esto se debe al hecho de que el abono orgánico presenta etapas diferentes de descomposición.

El uso de inoculante se presenta como una tecnología complementaria al compostaje, ayudando a disminuir los residuos orgánicos, biotransformándolos para después utilizarlos como abono orgánico en cultivos. Medina *et al.*, (2018) concluyen entonces que, aún hay que abordar dichas investigaciones ya que muestran una gran promesa en términos de mejorar el ambiente y rehabilitar suelos áridos que se encuentren contaminados con sustancias tóxicas. El uso de inoculantes microbianos logran ser muy eficientes en casos de estudio, un ejemplo es el realizado por Reyes-Ramírez (2014) donde indicaron que, el uso de estos inoculantes microbianos son una estrategia viable para nutrir cultivos y aumentar la productividad de estos cultivos sin deteriorar el suelo donde se encuentren. El propósito del caso de estudio fue evaluar el efecto de inoculantes microbianos en el crecimiento y la productividad en invernadero del chile habanero (*Capsicum chinense Jacq*). Se aplicaron los inoculantes durante el trasplante y efecto positivo de la inoculación con *Pseudomonas spp*. Al cabo de 120 días después del trasplante, se observó claramente el crecimiento del chile habanero. De esta manera, el efecto particular de este inoculante pudo ser una mezcla del mecanismo de acción del inoculante y la fertilización convencional (N, P y K).

Muthukumar *et al.*, (2022) hicieron un estudio utilizando suelo contaminado con lodo de aceite crudo y suelo con aceite de motor, los cuales se bioaumentaron eficazmente mediante la mezcla introducida de consorcios bacterianos *Pseudomonas aeruginosa* PP3 y *Pseudomonas aeruginosa* PP4. El pH y la temperatura fueron factores importantes para el crecimiento bacteriano y sus actividades. La tasa de remoción de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP) en suelos contaminados con lodos de petróleo y petróleo crudo fue del 52% y 67%. Los resultados obtenidos mediante el análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas de hidrocarburos residuales confirmaron que los hidrocarburos fueron degradados de manera efectiva por los consorcios bacterianos, lo que dió como resultado que el nivel de eficiencia de degradación, tanto del suelo contaminado con lodos de aceite crudo, como de lodo de aceite de 65% y 83%, respectivamente. Este resultado indica que la degradación bioaumentada se produjo efectivamente en suelos contaminados con lodos de aceite. Los autores concluyeron que los consorcios bacterianos seleccionados degradaron efectivamente los hidrocarburos y favorecieron el potencial de remoción en el suelo contaminado con hidrocarburos en un período corto.



## 4. JUSTIFICACIÓN

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

Actualmente, los recursos naturales conocidos por el hombre se han visto afectados adversamente por la creciente contaminación que se produce todos los días, producto de la explotación principalmente de hidrocarburos. Las secuelas que éstos dejan en los suelos incluyen la pérdida de la mayoría de sus propiedades fisicoquímicas y funciones biológicas, afectando así a diversos ecosistemas. El uso de inoculantes microbianos no sólo puede beneficiar a los suelos contaminados con hidrocarburos, también puede ser benéfico como propuesta agrícola usado como biofertilizante con menor impacto en la salud y al medio ambiente. Los microorganismos beneficiosos pueden ser útiles para mejorar el crecimiento de los cultivos y plantas, ya que incrementan la resistencia contra los patógenos y al medio ambiente, además de ayudar a disminuir el efecto negativo por estrés (Sánchez *et al.*, 2022).

La SEMARNAT (2010) indicó que durante el periodo comprendido de 2003-2009, en el país se presentaron 1,219 emergencias ambientales en las cuales se derramaron materiales y/o residuos peligrosos hacia el medio ambiente. Las principales causas de las emergencias, tomando en cuenta su orden de magnitud, fueron: las fugas de ductos, los derrames de carros tanque, el robo de hidrocarburos en ductos, los derrames de materiales peligrosos de tanques de almacenamiento. Tabasco se encuentra dentro de las entidades más afectadas por las emergencias ambientales, siendo las fugas de hidrocarburos la principal causa de dichas emergencias principalmente en los municipios de Comalcalco y Paraíso. Esta cifra se ha incrementado con el tiempo, ya que de 2018 a 2021, Petróleos Mexicanos (Pemex) registró 176 derrames y fugas, en moderado y graves, donde Tabasco y Veracruz registraron una incidencia de alrededor del 63% (Ramírez, 2022). Es por eso que se necesitan buscar soluciones para manejar la contaminación por hidrocarburos, haciendo hincapié en las tecnologías de biorremediación como estrategia para tratar dichas contaminaciones presentes en suelo.

Chan-Quijano *et al.* (2015) mencionan que debido a la lenta renovación que tiene el suelo, con respecto a la contaminación por hidrocarburos, es necesaria tener una alternativa de limpieza para suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo, como lo es la utilización de componentes biológicos que contribuyen a la oxidación, degradación, transformación y completa mineralización de estos contaminantes. Los métodos basados en tratamientos biológicos dependen principalmente de la capacidad de los microorganismos para degradar los contaminantes orgánicos a productos inocuos y finalmente a compuestos como el dióxido de carbono, agua y biomasa. Existen diferentes estrategias de biorremediación, entre las que se incluyen la bioestimulación, la bioaumentación y la atenuación natural (Madueño, 2013). Haciendo énfasis en la bioaumentación, este es un enfoque microbiológico eficaz que implica la

adición de microorganismos especializados en los sitios contaminados, para incrementar las tasas de remoción. En particular, se prefiere el uso de microorganismos autóctonos debido a sus capacidades de adaptación al nuevo entorno y previamente aclimatados para el proceso de biorremediación. El éxito de la bioaumentación depende de las condiciones de preparación previa del inóculo y de la adaptación de los microorganismos a otras fuentes de carbono además de las presentes en el suelo contaminado. En el proceso de bioaumentación, se mejora la tasa de biodegradación, aumentando la biomasa de las bacterias degradadoras. Sin embargo, es de suma importancia considerar la viabilidad de las cepas bacterianas a utilizar durante el proceso (Zenteno *et al.*, 2022). Teniendo en cuenta que el crecimiento bacteriano es de suma importancia para la remediación de suelos, es importante considerar que una concentración alta de microorganismos generalmente produce un mayor nivel de biorremediación (Escorza-Núñez, 2010; Pérez *et al.*, 2012).

De acuerdo con lo anterior, en el presente trabajo se evaluará el efecto de diferentes concentraciones de hidrocarburos sobre la eficiencia de un inoculante bacteriano compuesto por un cultivo mixto definido, compuesto por bacterias degradadoras, durante el proceso de co-compostaje con lirio acuático como tecnología de biorremediación del suelo. La evaluación de la eficiencia se basará en la determinación de la remoción de los hidrocarburos y el comportamiento de indicadores de la actividad microbiana.

# OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

#### 4.1. Objetivo general

Evaluar la eficiencia de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante su aplicación en un sistema de biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático.

#### 4.2. Objetivos específicos

- Determinar la eficiencia de biodegradación de un inoculante bacteriano en presencia de diferentes concentraciones de hidrocarburos (15, 25 y 35 g kg<sup>-1</sup>) en un sistema de co-compostaje suelo contaminado-lirio acuático.
- Evaluar la actividad respiratoria (producción de CO<sub>2</sub> y consumo de O<sub>2</sub>); así como, la actividad de la enzima lipasa durante el proceso de co-compostaje.
- Analizar el efecto de diferentes concentraciones sobre el número de microorganismos (heterótrofos totales y degradadores) de hidrocarburos presentes en el suelo contaminado.

#### 4.3. Hipótesis

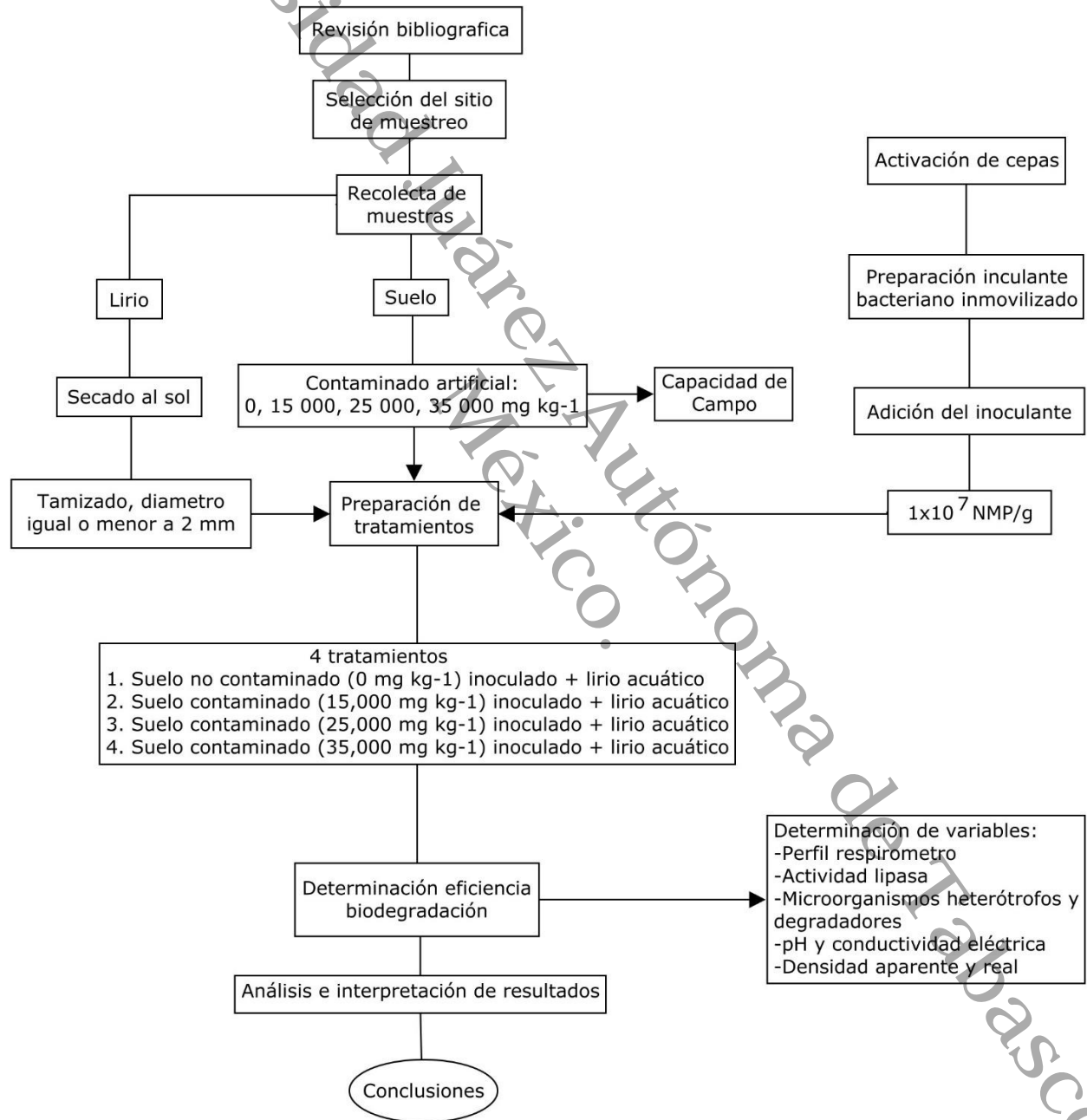
La eficiencia del cultivo mixto definido en presencia de diferentes niveles de concentración de hidrocarburos (15, 25 y 35 g kg<sup>-1</sup>) podrá ser estimada a través de indicadores biológicos como la remoción de hidrocarburos, la actividad de la enzima lipasa, y el perfil respirométrico; los cuales se verán favorecidos por la estrategia de aplicación de un inoculante inmovilizado combinado con la aplicación de lirio acuático como acondicionador orgánico durante el proceso de co-compostaje.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 5.1. Estrategia experimental

A continuación, se presenta la estrategia experimental (Figura 1) con las diferentes etapas para la evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano durante su aplicación en un sistema de biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático.



**Figura 1.** Estrategia experimental para la evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante su aplicación en un sistema de biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático.

### 5.1.1. Recolección de suelo no contaminado y lirio acuático

Se recolectó suelo no contaminado en la región del municipio de Huimanguillo, Tabasco. Se tomaron aproximadamente 12 kg de suelo a una profundidad de 0 a 30 cm.

La recolección del lirio acuático se llevó a cabo en la División Académica de Ciencias Biológicas, en el cuadrante de la Unidad de Manejo Ambiental (UMA) donde existe una acumulación de la especie. El lirio fue triturado mecánicamente y secado al sol hasta obtener una humedad aproximada de 35%. Posteriormente, se redujo el tamaño de partícula para obtener un granulado fino (<2 mm).



**Figura 2.** Recolección de suelo no contaminado y lirio acuático. a) Punto geográfico (Google Earth) del sitio. b) Panorama del sitio en Huimanguillo, Tabasco. c) Recolección de lirio acuático en la UMA

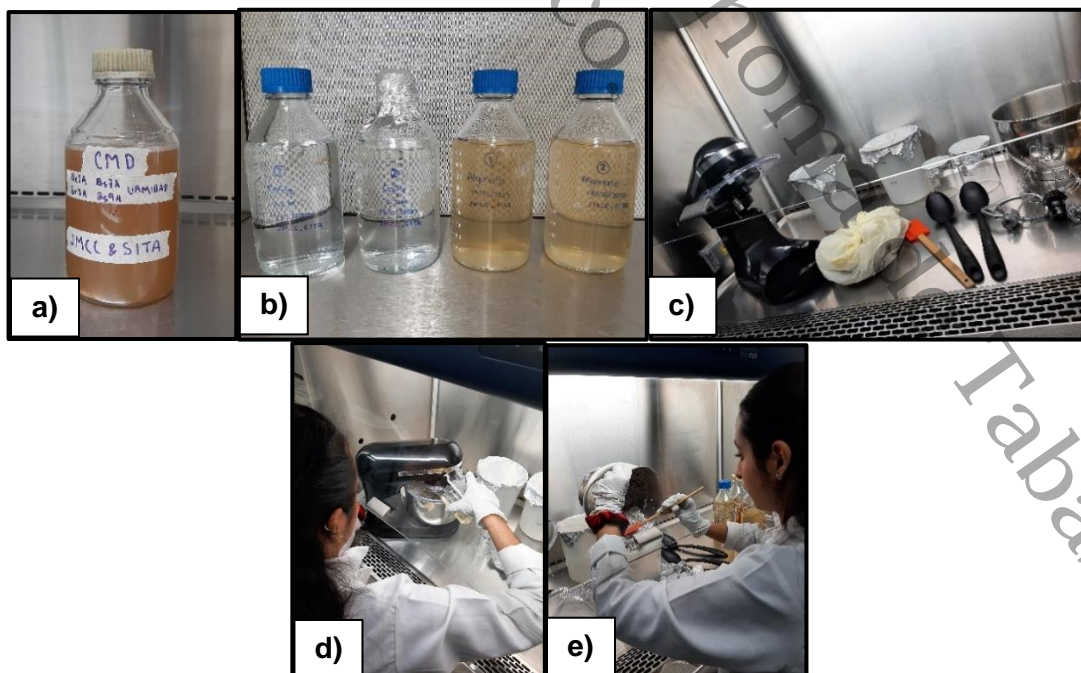
### 5.1.2. Preparación del inoculante bacteriano

Se preparó un inoculante bacteriano inmovilizado compuesto por bacterias degradadoras de hidrocarburos previamente aisladas de la rizosfera de una planta proveniente de un sitio contaminado (Díaz-Ramírez *et al.*, 2008). La preparación se realizó a partir de cultivos axénicos recientes crecidos en placas petri con los cuales se inocularon matraces (250 ml) con caldo de



soya tripticaseína (CST, 100 ml) y se incubaron durante 48 h en agitación (120 r.p.m.). Posteriormente, se transfirieron 60 ml del precultivo como inóculo hasta obtener un cultivo con 300 ml de CST y se incubaron por 72 h. Se registró la densidad óptica de las suspensiones celulares en las diferentes etapas del precultivo y se verificó que los valores obtenidos fueran mayores a 1A.

Para la preparación del cultivo mixto definido (CMD) estandarizado se mezclaron proporcionalmente las suspensiones microbianas obtenidas hasta que se obtuvo un volumen de alrededor de 1L. Esta suspensión microbiana se usó para la preparación del CMD inmovilizado en agrolita como se describe a continuación: el inoculante se preparó usando: a) agrolita (1.20 mm – 2.38 mm) como soporte, previamente esterilizada (121°C, 20 min.), b) solución de alginato de sodio (9.1 mg ml<sup>-1</sup>) y c) cloruro de calcio (0.2M) previamente esterilizados. Para la preparación de la mezcla se adicionó el inoculante a la agrolita estéril (2:1 volumen/peso) mezclando con ayuda de una homogeneizadora de paletas, se dejó reposar (24 h) y posteriormente se adicionó la solución de alginato con mezclado en intervalos de 2 minutos. Posteriormente, se adicionó el cloruro de calcio mezclando continuamente hasta su incorporación. Se dejó en reposo 30 minutos donde finalmente se drenó la solución excedente. El CMD-inmovilizado se dejó en refrigeración (5 ° C) hasta su uso.



**Figura 3.** Preparación del Cultivo Mixto Definido (CMD) a) Volumen 1 litro de suspensiones microbianas. b) Alginato de sodio y cloruro de calcio utilizado. c) Materiales utilizados. d) Mezclado de suspensiones

microbianas, alginato de sodio y cloruro de calcio con una homogeneizadora de paletas. e) Mezcla colocada en recipientes para reposo.

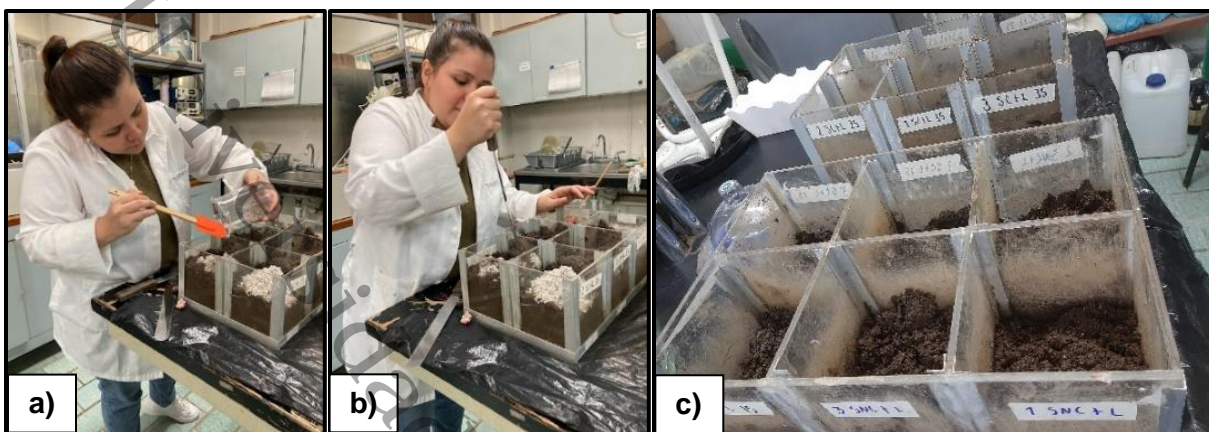
### **5.1.3. Ensayo de evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano sobre su remoción de hidrocarburos durante el co-compostaje con lirio acuático**

Para la determinación de la eficiencia de biodegradación en un sistema basado en bioaumentación y co-compostaje de suelo contaminado en presencia de lirio acuático, se realizó un experimento con un diseño de un sólo factor con unidades experimentales con seis divisiones individuales (12x12x15 cm) compuestas por mezclas de suelo artificialmente contaminado a tres niveles de concentración de hidrocarburos (15 000, 25 000 y 35 000 mg kg<sup>-1</sup>), lirio acuático (10%) y el inoculante (10%), en un período de tiempo de 20 días de experimentación. Estas unidades experimentales estuvieron organizadas por triplicado de acuerdo a los siguientes tratamientos:

- 1) suelo no contaminado inoculado adicionado con lirio
- 2) suelo contaminado (concentración de 15,000 mg kg<sup>-1</sup>) inoculado adicionado con lirio
- 3) suelo contaminado (concentración de 25,000 mg kg<sup>-1</sup>) inoculado adicionado con lirio
- 4) suelo contaminado (concentración de 35,000 mg kg<sup>-1</sup>) inoculado adicionado con lirio

La bioaumentación (tratamientos adicionados con el CMD-inmovilizado) se realizó para obtener alrededor de 1x10<sup>7</sup> NMP/g y se ajustó la relación C/N del cultivo a 15, adicionando Triple 17 Vigoro® como fuente de nitrógeno inorgánico para ajustar a esta relación. Para establecer esta relación se consideró un balance entre el carbono total presente en la mezcla suelo contaminado: lirio con respecto al nitrógeno contenido en el suelo y el aportado por el lirio. La mezcla se humectó hasta obtener un valor de humedad aproximado al 75% de la capacidad de retención de agua (CRA).

Como variables de respuesta se determinaron: a) el perfil respirométrico (producción de CO<sub>2</sub> y consumo de O<sub>2</sub>), b) la cinética de actividad de la enzima lipasa, c) la cinética de biodegradación d) el contenido de microorganismos heterótrofos totales y degradadores de hidrocarburos (hexadecano).



**Figura 4.** Preparación de unidades experimentales a) Inoculante bacteriano añadido a unidades experimentales. b) Mezclado del tratamiento. c) Unidades experimentales

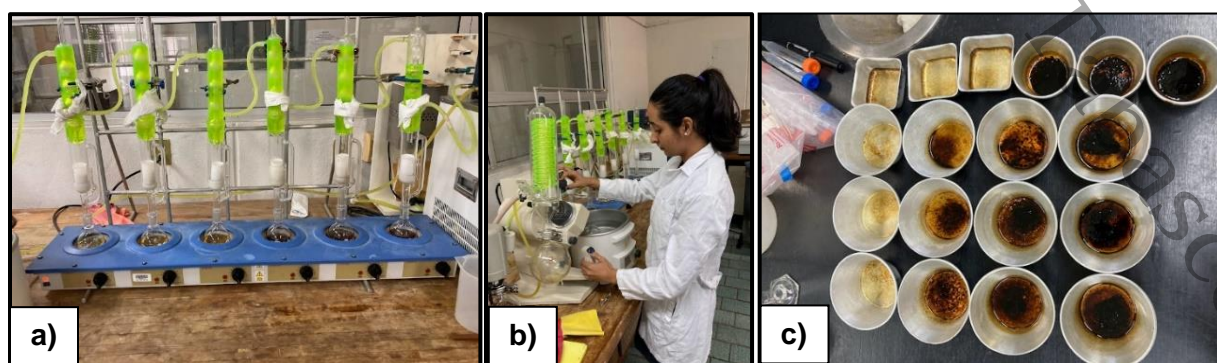
## 5.2. Análisis fisicoquímicos

### 5.2.1. Potencial de hidrógeno (pH) y conductividad eléctrica (CE)

La medición del pH de la mezcla suelo más lirio acuático se realizó a través del método AS-02, descrito en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Se pesaron muestras de 5 g de la mezcla y se colocaron en vasos de precipitados de 50 ml. Se adicionaron 50 ml de agua destilada a cada uno y se agitaron durante 30 minutos. Posteriormente, se filtraron a vacío y el filtrado fue utilizado para realizar las lecturas utilizando un potenciómetro (Thermo Electron Corporation modelo Versa B40) previamente calibrado.

### 5.2.2. Extracción de Hidrocarburos Totales de Petróleo (HTP)

Se realizó usando el método de extracción Soxhlet (EPA 3540). Utilizando 10 g a 15 g de la mezcla (base seca) y manteniendo a reflujo durante 6 - 8 horas en el extractor Soxhlet con una mezcla Acetona: Hexano (1:1). Los hidrocarburos residuales ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) fueron cuantificados gravimétricamente.



**Figura 5.** Extracción de hidrocarburos. a) Método de extracción Soxhlet. b) Recuperación hexano/acetona utilizando Rota-vapor BUCHI R-210. c) Charolas después de la evaporación

### **5.2.3. Capacidad de campo**

Se utilizó el método termogravimétrico (Powers & McSorley, 2001), el cual consistió principalmente en el cálculo de la humedad por diferencias de peso entre la mezcla saturada de suelo más lirio acuático y después de un proceso de secado (105°C) durante 24 horas o hasta peso constante.

### **5.2.4. Densidad aparente**

Se utilizó el método modificado por Muñoz-Iniestra *et al.*, (2013), en el cual se emplearon probetas de 50 ml las cuales se pesaron al inicio del experimento. Posteriormente se agregaron 10 gramos de las muestras de suelo más lirio acuático en estudio. Después de esto se aplicaron ligeros golpes (5 veces) sobre una franela o superficie suave. Posteriormente, se agregó la cantidad de mezcla faltante hasta completar 10 ml y se golpeó nuevamente sobre la franela. Finalmente se pesaron las probetas más la mezcla y se le restaron los pesos registrados al encontrarse estas vacías.

### **5.2.5. Densidad real**

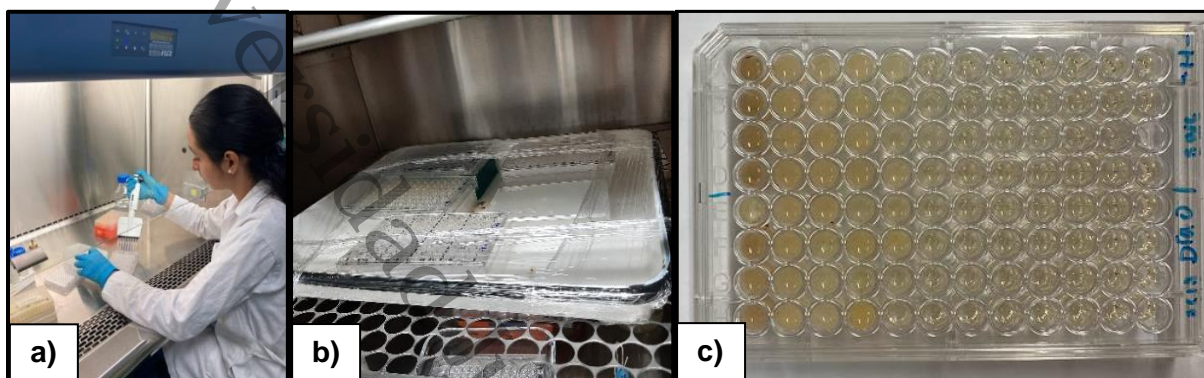
Se utilizó el método propuesto por Aguilera & Domínguez (1980) modificado por Muñoz-Iniestra *et al.*, (2013). Se utilizaron matraces aforados con capacidad para 100 ml. Posteriormente se añadieron a cada matraz 5 gramos de las muestras de suelo más lirio acuático. Después se agregó agua destilada hasta las  $\frac{3}{4}$  partes de los matraces y se taparon. Luego, se agitaron las mezclas de suelo durante media hora utilizando el agitador (Shaker). Se aforaron cada uno de los matraces con agua destilada y se dejaron reposar por un lapso de 15 minutos, para después pesarlos con la suspensión (mezcla de suelo + lirio acuático + agua).

## **5.3. Análisis microbiológicos**

### **5.3.1. Cuantificación de microorganismos heterótrofos del suelo**

Este se realizó por el método de número más probable (NMP) de microorganismos heterótrofos en microplacas. Se prepararon diluciones seriadas (1:10) usando solución salina (cloruro de sodio 0.85% y pirofosfato de sodio 0.18%, Lorch *et al.*, 1995). Para la determinación de NMP utilizando microplacas de prueba (96 pozos), se usó caldo de soya y tripticaseína (CST) (180  $\mu$ l) y se transfirieron alícuotas (20  $\mu$ l) de cada dilución seriada por pocillo. Para cada tratamiento se realizaron 4 réplicas para cada dilución y con diluciones hasta la  $10^{-8}$ ; los pocillos restantes se utilizaron como controles adicionando solamente el CST estéril. Las microplacas se incubaron a 32°C y se realizaron las lecturas a las 24 y 48 horas. Se registraron los resultados positivos y se

realizó el cálculo del NMP de los microorganismos heterótrofos, utilizando el software MPN-calculator (EPA V 4.04), usando los criterios de prueba de Cornish & Fisher, con un 95% de confianza.



**Figura 6.** Determinación de microorganismos heterótrofos en microplacas. a) Adición de CST e inóculo de diluciones seriadas. b) Incubación de microplaca. c) Microplaca con pocillos positivos después de 48 horas.

### 5.3.2. Cuantificación de microorganismos degradadores

Se utilizó el método de Número más Probable (NMP  $\text{g}^{-1}$  suelo seco) en microplacas descrito por Wrenn & Venosa, (1996), brevemente, se usaron las mismas diluciones que las preparadas para el método anterior y se transfirieron alícuotas (20  $\mu\text{l}$ ) por triplicado a microplacas estériles previamente adicionadas con 5  $\mu\text{l}$  hexadecano ( $17,177 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), y medio mineral (180  $\mu\text{l}$ ) con la siguiente composición ( $\text{g l}^{-1}$ ):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  12.8,  $\text{KCl}$  0.5,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.3,  $\text{NaNO}_3$  3.5. Las microplacas se incubaron a  $35^\circ\text{C}$  por 14 días. Trascurrido el tiempo de incubación se adicionó iodonitrotetrazolio (INT, 3  $\text{g l}^{-1}$ ) a cada pozo e incubaron 24 horas. Se registraron los resultados positivos y se realizó el cálculo del NMP de los microorganismos degradadores, utilizando el software MPN-calculator (EPA V 4.04) usando los criterios de prueba de Cornish & Fisher, con un 95% de confianza.

### 5.4. Análisis respirométricos

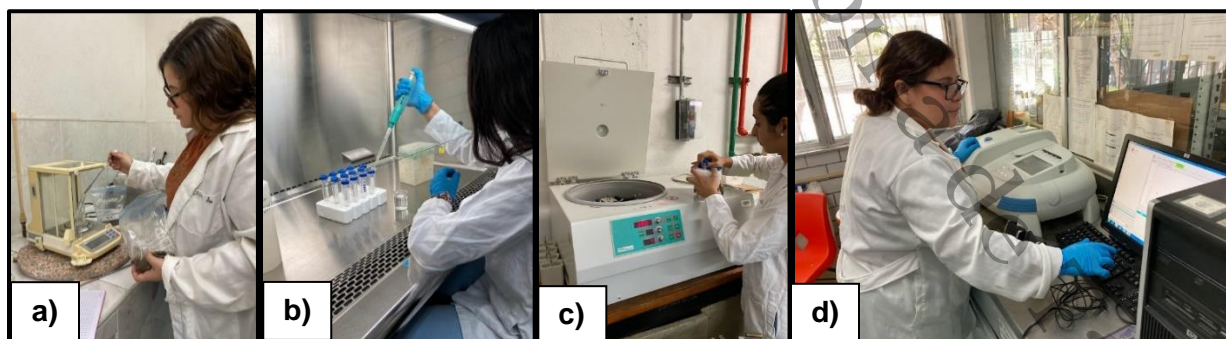
Para la determinación de la actividad metabólica del CMD-inmovilizado se midió el consumo de  $\text{O}_2$  y la producción de  $\text{CO}_2$  durante el cultivo para cada uno de los tratamientos. Esto se realizó utilizando un sistema de respirometría (Sistema SS4, SableSys International Co.) con una configuración estandarizada similar al protocolo descrito previamente por Riveroll-Larios *et al.*, 2015. Se colocaron 50 g de muestra en botellas de vidrio con tapas de rosca (500 ml) como unidades experimentales. Las botellas se cerraron herméticamente y se mantuvieron a temperatura controlada ( $35^\circ\text{C}$ ). En cada tiempo de muestreo (0, 1, 4, 8, 12, 15 y 19 días) se determinaron el consumo de  $\text{O}_2$  y el  $\text{CO}_2$  producido durante 24 horas. Los datos crudos obtenidos

de ambos gases fueron tratados usando el software Expedata (Sable Sys International Co. Ver. 6.18) para calcular: el consumo total de oxígeno ( $\text{mg O}_2 \text{ kg}^{-1}$ ) y la producción total de dióxido de carbono ( $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$ ); así como la velocidad de consumo de oxígeno y de producción de dióxido de carbono ( $\text{mg kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) de cada gas.

### 5.5. Determinación de la actividad de la enzima lipasa

La actividad de la enzima lipasa se determinó utilizando el método propuesto por Margesin (2005), modificado como sigue. Se pesaron por triplicado con exactitud alrededor 0.5 g de cada muestra de suelo en tubos para centrífuga (15 ml). Posteriormente se añadió 5 ml de buffer de fosfatos ( $\text{pH}=6$ ), después se incubó en baño de agua a  $30^\circ\text{C}$  durante 10 minutos. Posteriormente se mezcló en vortex durante 2 minutos y se adicionó  $50 \mu\text{l}$  de p-nitro-fenil-butirato (pNPB,  $100\text{mM}$ ). Mezclado e incubado en baño de agua a  $30^\circ\text{C}$  por 10 minutos. Se transfirieron los tubos a un baño de hielo a  $4^\circ\text{C}$  (10 minutos). Se centrifugaron a  $3,500 \text{ rpm}$  a  $4^\circ\text{C}$  (centrifuga Hermle Z400K) por 10 minutos. Se leyó la absorbancia espectrofotométricamente a una longitud de onda de  $405 \text{ nm}$  (Evo 220, ThermoScientific). La actividad enzimática se determinó por el método de curva estándar, previamente preparada con p-nitrofenol a diferentes concentraciones ( $0, 25, 50, 75, 100$  y  $125 \mu\text{g pNP } 5 \text{ ml}^{-1}$  de solución amortiguadora) y en presencia de una muestra del suelo bajo estudio.

Los resultados se expresaron como  $\mu\text{g pNP liberado g}^{-1} \text{ suelo seco } 10 \text{ min}^{-1}$ .



**Figura 7.** Determinación de actividad enzima lipasa. a) Pesado de muestras para cada tubo. b) Adición de buffer de fosfatos. c) Centrifugación para separación de fase sólida y líquida de los tubos. d) Lectura de absorbancia espectrofotométricamente a  $405 \text{ nm}$  (Evo 220, ThermoScientific).

### 5.6. Análisis estadísticos

Para el análisis de los resultados de la actividad enzimática (lipasa), se compararon las medias entre los tratamientos con respecto al tiempo mediante un ANOVA multifactorial a través del

tiempo. Así mismo, para el contenido de los hidrocarburos residuales y la biodegradación, se compararon las medias de al final del ensayo haciendo uso del programa estadístico Statgraphics Centurión XVI, V16.1.03.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## **6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



Para llevar a cabo el objetivo principal de evaluar la eficiencia de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante su aplicación en un sistema de biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático, se prepararon diferentes unidades experimentales y durante un tiempo de 25 días se analizaron parámetros como: el pH, conductividad eléctrica, concentración de HTP residuales y biodegradación, microorganismos degradadores y heterótrofos, actividad respiratoria y la actividad de la enzima lipasa.

### 6.1. Caracterización fisicoquímica del suelo

La caracterización fisicoquímica del suelo es de importancia ya que permite obtener información relevante de las propiedades que lo conforman y conocer su comportamiento para implementar criterios en su estado de salud; haciendo énfasis en saber el estado nutrimental y sus compuestos orgánicos e inorgánicos que forman parte del mismo suelo a analizar (Garrido & Licona, 2017).

En la Tabla 1 se presentan los resultados correspondientes a la caracterización del suelo usado en esta etapa, el cuál fue recolectado en el mismo sitio ubicado en Huimanguillo, Tabasco.

Los análisis de pH, Conductividad Eléctrica (CE), contenido de Nitrógeno (N), Materia Orgánica (MO) y el Carbono Orgánico Total (COT) fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Bioprocesos en la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBIOL), de acuerdo con los procedimientos previamente descritos.

**Tabla 1.** Resultados de parámetros de la caracterización fisicoquímica del suelo no contaminado (SNC) y de la mezcla de suelo no contaminado con lirio acuático (SNC + L).

	pH	CE ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )	Ceniza (%)	MO (%)	COT (%)	N <sup>a</sup> (%)	DA ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )	CC (%)	P <sub>t</sub> (%)	Espacio aéreo (%)	D <sub>p</sub> ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )	D <sub>s</sub> ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )
<b>SNC+L</b>	7.2 $\pm$ 0.108	818.9 $\pm$ 58.640	83.295	16.705	9.69	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>
<b>SNC</b>	6.01 $\pm$ 0.21	268 $\pm$ 57.92	96.51 $\pm$ 0.39	3.49 $\pm$ 0.39	2.03 $\pm$ 0.23	0.00 23	634.26 $\pm$ 12.69	32 $\pm$ 1.62	0.47 $\pm$ 0.04	14.57 $\pm$ 3.21	637.23 $\pm$ 12.54	1252.5 $\pm$ 51.6

<sup>a</sup> Valor determinado por Pérez-Ortiz, 2022, en suelo recolectado en el mismo sitio.

<sup>b</sup> No Determinado

En la Tabla 1 se observa que, para el suelo no contaminado (SNC), se presenta un valor de pH promedio de 6; por el contrario, el suelo no contaminado con lirio (SNC + L) se observa que tuvo un pH neutro cuyo valor es de 7.2. Con base en la NOM-021-SEMARNAT-2000, la cual establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, se puede clasificar al suelo como “neutro (pH  $\approx$  6.6-7.3)”. También, para la conductividad eléctrica de las muestras se

observa que el suelo no contaminado (SNC) tuvo un valor promedio más bajo (valor de 268  $\mu\text{s/cm}$ ) en comparación con el suelo no contaminado más lirio (SNC + L) (valor de 818.9  $\mu\text{s/cm}$ ). El contenido de nitrógeno presente en el SNC cataloga al sustrato como “clase muy bajo” para suelos no volcánicos ( $N \approx < 0.05$ ) de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000, significando una deficiencia de nitrógeno total en el suelo, siendo esto algo común en suelos arenosos como lo es la textura del suelo estudiado; también puede ser debido a lluvias torrenciales o riego abundante en el lugar provocando la deficiencia por el exceso de agua (Cherlinka, 2022).

En cuanto al contenido de Materia Orgánica (MO), el suelo es clasificado como “clase medio” para suelos no volcánicos ( $MO \approx 1.6-3.5$ ) de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000; donde entrando en la suposición que, el suelo debería tener un porcentaje adecuado cercano al 5% de porcentaje de Materia Orgánica (%MO) (Farinango *et al.*, 2020), se concluye que es rico en MO debido a la vegetación encontrada en el sitio de las muestras recolectadas, significando fertilidad en el suelo.

Respecto al porcentaje de Carbono Orgánico Total (%COT), este tuvo un resultado de 2.03% para el promedio de las muestras de suelo no contaminado, siendo este parámetro de suma importancia para la actividad biológica del suelo debido a que suministra recursos energéticos a los organismos que estén presentes, principalmente a los heterótrofos (Burbano, 2018).

Igualmente, en la Tabla 1 se muestra las densidades calculadas (aparente, de partículas y saturada) expresadas en  $\text{kg/m}^3$  dando un valor más alto la densidad saturada con 1,252.52  $\text{kg/m}^3$ ; se obtuvo una desviación estándar de la capacidad de campo con un valor de 1.62% haciendo referencia que los datos de varias muestras analizadas del suelo no contaminado están cerca de la media de la capacidad de campo.

## 7.2 Ensayo de evaluación del desempeño del inoculante bacteriano inmovilizado en diferentes niveles de concentración de hidrocarburos durante el co-compostaje.

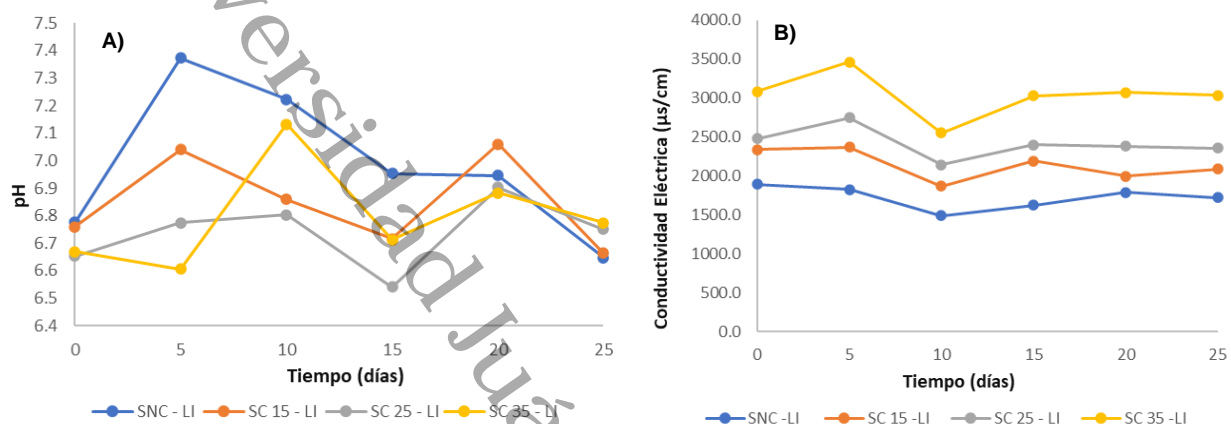
A continuación, se presentan los resultados del ensayo de evaluación de la eficiencia del inoculante bacteriano inmovilizado en presencia de diferentes concentraciones de hidrocarburos.

### 7.2.1 Estimación del pH y conductividad eléctrica del suelo

Se pudo observar que los valores de pH fueron distintos para cada tratamiento, en la Figura 8 se expone el comportamiento que tuvo, según el día. Se puede ver que el suelo no contaminado (SNC) tuvo el mayor pH de todos los tratamientos, con un valor de 7.4 en el día 5, posteriormente fue descendiendo su unidad obteniendo un pH de 6.7; Por otro lado, los tratamientos de suelo contaminado más lirio e inoculante a 15, 25 y 35 mg kg<sup>-1</sup> (SC 15 – LI, SC 25 – LI , SC 35 - LI respectivamente) obtuvieron valores que oscilaron entre el 7.2 y el 6.5, el valor más alto lo obtuvo el SC 35 – LI con un pH 7.1 en el día 10, mientras que el más bajo lo obtuvo SC 25 – LI con un pH 6.5 en el día 15. Con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, podemos clasificar a los tratamientos ensayados con respecto al pH como neutros (rango de neutralidad: pH 6.6-7.3). Rodríguez-Gonzales *et al.* (2022) menciona que para que las comunidades microbianas puedan llevar a cabo la biorremediación, el suelo preferentemente debe estar dentro de un rango de pH que oscile entre 6 a 8.

Para la conductividad eléctrica, la cual se muestra en la Figura 8 panel B, se puede observar las tendencias de concentraciones para cada tratamiento experimental. Al inicio del experimento, el SNC – LI obtuvo resultados despreciables de salinidad (<1 ds m<sup>-1</sup>, NOM-021-SEMARNAT-2000) con valores ≤0.018 ds m<sup>-1</sup>, las cuales tuvieron un comportamiento constante durante la experimentación. Los valores más altos durante toda la experimentación se obtuvieron en el suelo contaminado a 35 mg kg<sup>-1</sup> (SC 35 – LI), el día 5. Entre los días 5 y 15 hubo una disminución en la conductividad eléctrica para todos los tratamientos, notoriamente mayor en el SC 35 – LI que, en el resto, atribuyéndoselo a que los microorganismos transformaron las sales del suelo para utilizarlas como fuente de energía, lo cual tiene coherencia con los demás tratamientos ya que durante ese periodo se observó una actividad microbiana alta (mayor actividad enzimática lipasa, mayor actividad de microorganismos heterótrofos y degradadores). Posteriormente a este periodo, todos los tratamientos se mantuvieron en una línea constante hasta el final del bioproceso. Los suelos contaminados presentaron valores más altos que el suelo no contaminado, aunque para la finalización del bioproceso no se encontraron diferencias significativas. Esto coincide con lo observado por Romaniuk *et al.* (2018), donde se evaluó la

degradación de hidrocarburos presentes en un suelo por atenuación natural y con un producto comercial, en el que suelo contaminado con el aceite tuvieron mayores valores que los suelos testigo.

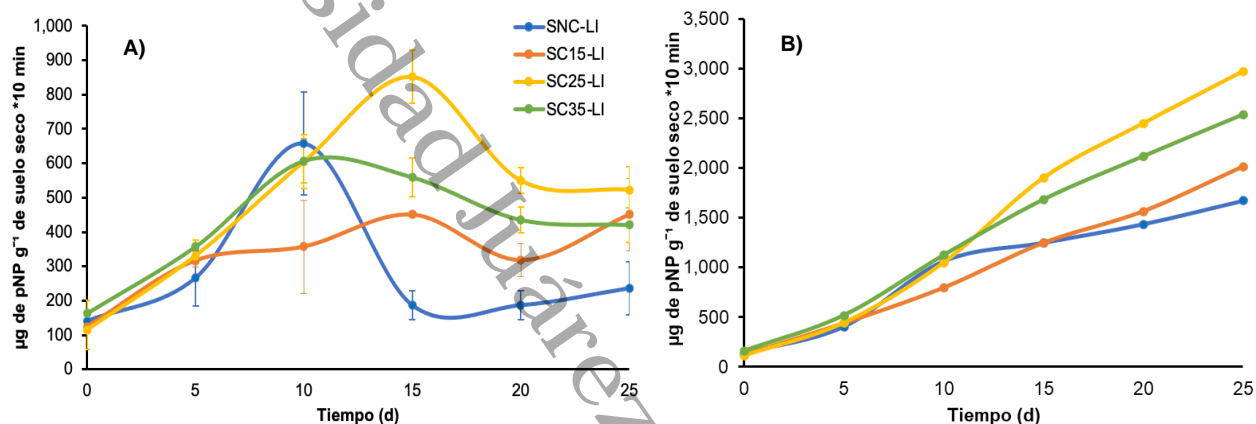


**Figura 8.** Comportamiento del pH (Panel A) y conductividad eléctrica (Panel B) durante el proceso de co-compostaje de suelo contaminado a diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000 mg kg<sup>-1</sup>).

### 7.3 Actividad de la enzima lipasa en función de la presencia del inoculante inmovilizado y diferentes concentraciones de hidrocarburos.

El análisis de la actividad enzimática lipasa se considera de utilidad para el monitoreo de la actividad biológica de suelos contaminados con hidrocarburos totales de petróleo (HTP). En general se ha reportado que la actividad enzimática se incrementa a mayor contenido de HTP, por lo cual, en análisis ambiental, se toma esta actividad como un indicador de contaminación (Martínez *et al.*, 2014, Riveroll-Larios *et al.*, 2015). Para este estudio, la actividad de la enzima lipasa se utilizó como un bioindicador de la actividad microbiana bajo condiciones de biorremediación por co-compostaje y bioaumentación con un inoculante inmovilizado, en respuesta a la presencia de diferentes concentraciones de hidrocarburos totales de petróleo (fracción media). La actividad enzimática determinada durante el periodo de experimentación se muestra en la Figura 9A y Figura 9B. El análisis estadístico (ANOVA) de los datos de la cinética de la actividad de la enzima lipasa mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos inoculados (SC15-LI, SC25-LI, SC35-LI) para las diferentes concentraciones probadas (HSD,  $p < 0.05$ ). Durante los primeros 10 días se presentaron diferencias estadísticamente significativas (HSD, 95% de confianza) entre los valores de actividad lipasa para las diferentes concentraciones ( $p < 0.05$ ); sin embargo, se aprecia una tendencia de incremento mayor tanto para las muestras con concentraciones de 25,000 y 35,000 mg kg<sup>-1</sup>. En el caso del suelo con presencia de 25,000 mg kg<sup>-1</sup> (SC 25-LI) se observa una actividad máxima

(852.24  $\mu\text{g}$  de pNP  $\text{g}^{-1}$  de suelo seco  $\cdot 10 \text{ min}$ ) a los 15 días de cultivo, nivel que, de acuerdo a la comparación de medias para este tiempo de cultivo, resultó estadísticamente diferente respecto a los demás tratamientos (HSD  $p < 0.05$ ) con un nivel de confianza del 95%. Mientras que para el SC35-LI y el SC15-LI, la actividad máxima fue de 559.29 y 451.05  $\mu\text{g}$  de pNP  $\text{g}^{-1}$  de suelo seco  $\cdot 10 \text{ min}$ , respectivamente.



**Figura 9.** Actividad de la enzima lipasa durante el proceso de co-compostaje de suelo contaminado a diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000  $\text{mg kg}^{-1}$ ) y una relación C/N de 15. Panel A. Cinética de actividad lipasa. Panel B. Actividad lipasa acumulada. Cada valor representa el promedio de tres replicas.

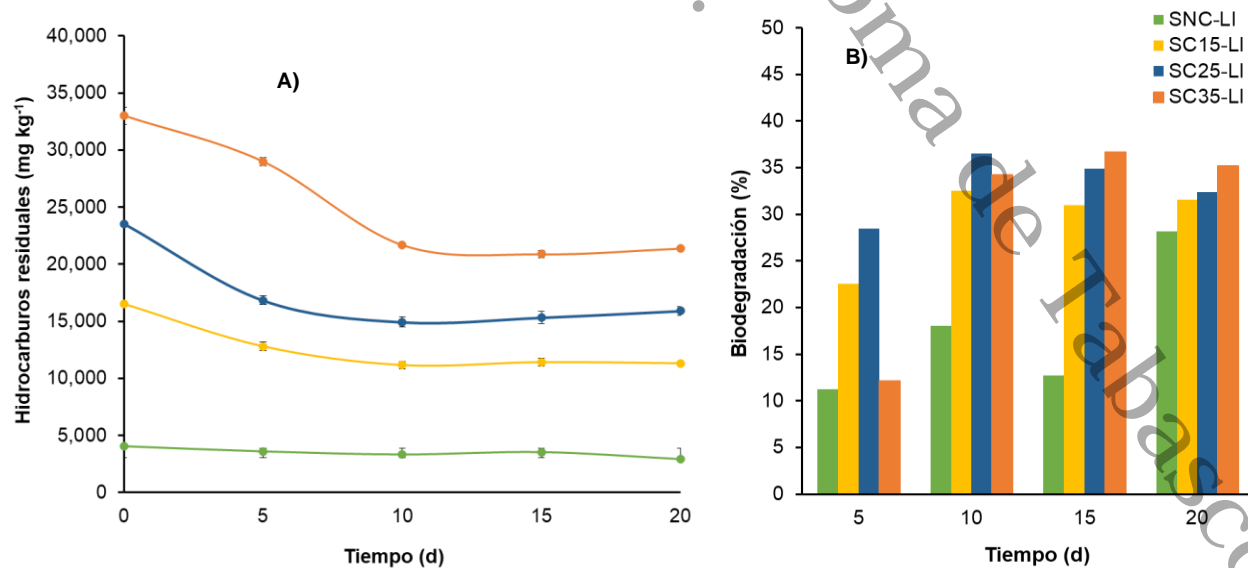
Las diferencias en la actividad lipasa pueden apreciarse en la Figura 9B, en la cual se puede ver un valor acumulado de actividad enzimática mayor en las muestras con un contenido inicial de hidrocarburos de 25,000  $\text{mg kg}^{-1}$ , seguido de las concentraciones de 35,000 y 15,000  $\text{mg kg}^{-1}$ . El análisis de los resultados permite inferir que la adición de lirio acuático motivó el incremento de la actividad lipasa, lo que explica que en el suelo no contaminado (SNC-LI) la actividad lipasa presentó un nivel similar al obtenido en el SC15-LI (HSD,  $p > 0.05$ ), en los primeros 10 días de cultivo. Además, las tendencias observadas indican que la adición del inoculante probablemente permitió que la actividad lipasa se mantuviera significativamente más elevada entre los 15 y 25 días de cultivo (SC25-LI, SC35-LI).

#### 7.4 Remoción de hidrocarburos totales de petróleo y biodegradación

La restauración mediante la biorremediación de un sitio contaminado con hidrocarburos requiere de la caracterización de los microorganismos nativos que se encuentren presentes en el suelo. El resultado dependerá de la toxicidad, la concentración inicial de los hidrocarburos, la

biodegradabilidad, las propiedades que tenga el suelo estudiado, además del sistema de biorremediación seleccionado (Vizúete *et al.*, 2020).

En la Figura 10A se presenta la cinética de remoción de hidrocarburos, el análisis estadístico (ANOVA) de los datos mostró que existen diferencias estadísticamente significativas, con respecto al tiempo, entre las medias de las muestras de los tratamientos inoculados (SC15-LI, SC25-LI, SC35-LI) contaminados a las diferentes concentraciones (HSD,  $p < 0.05$ ). Al final del cultivo (20 días de monitoreo) las medias de los valores de remoción de los hidrocarburos resultaron significativamente diferentes entre los tratamientos (HSD,  $p < 0.05$ ), y hasta 5 veces superiores a los observados en el SNC adicionado con lirio. La biodegradación (Figura 10B) en presencia del inoculante fue creciente con respecto a la concentración, para los tratamientos SC15-LI, SC25-LI, SC35 -LI, respectivamente después de 20 días de cultivo. La biodegradación se hizo notoria desde los cinco días de iniciado el proceso de co-compostaje con un valor de 22, 28, 12 y 11% para SC15-LI, SC25-LI, SC35-LI y SNC-LI, respectivamente. Al final del cultivo (20 días) el análisis de estadístico de comparación de medias mostró diferencias estadísticamente significativas (Prueba Tstudent,  $p < 0.05$ ) con un nivel de confianza del 95%, en la biodegradación entre los tratamientos SC25-LI y SC35-LI. La remoción más alta (11,605.69 de HTP  $\text{mg kg}^{-1}$  de hidrocarburos residuales) se presentó en el SC35-LI después de 20 días de cultivo (Figura 10B). No se encontraron diferencias significativas entre las medias del nivel de biodegradación entre el SC15-LI y SC-25-LI (Prueba Tstudent,  $p > 0.05$ ). En contraste la biodegradación final fue significativamente más alta para todos los tratamientos con respecto al SNC-LI (HSD,  $p > 0.05$ ).



**Figura 10.** Cinética de remoción de hidrocarburos totales de petróleo (Panel A) y biodegradación (Panel B) durante el proceso de co-compostaje con diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000  $\text{mg kg}^{-1}$ ) y una relación C/N de 15. En la figura: suelo no contaminado inoculado con lirio (SNC-LI); suelo contaminado 15  $\text{g kg}^{-1}$  inoculado con lirio (SC 15-LI); suelo contaminado 25  $\text{g kg}^{-1}$  inoculado con lirio (SC

25-LI) y suelo contaminado 35 g kg<sup>-1</sup> inoculado con lirio (SC 35-LI). Los valores representan los promedios de tres réplicas de cada muestra.

A continuación, en la Tabla 2, se muestran los resultados de los parámetros cinéticos calculados a partir de los resultados del contenido de hidrocarburos durante el co-compostaje después de 20 días de cultivo. De acuerdo con los resultados, la presencia del inoculante propició la obtención de tasas elevadas de consumo de hidrocarburos en los diferentes tratamientos. Se puede apreciar que, a mayor concentración de hidrocarburos, mayor fue la tasa consumo global (TCG) y tasa de consumo máxima (TCM). Como se puede observar, el tratamiento que obtuvo el valor más alto en TCG fue el SC35-LI al igual que, el valor más alto en TCM fue obtenida para el mismo tratamiento.

Respecto a la vida media ( $t_{1/2}$ ), los tratamientos con concentraciones de hidrocarburos (SC15-LI, SC25-LI y SC35-LI), obtuvieron valores cercanos con un rango entre 32 a 45 días aproximadamente. Para el tratamiento no contaminado (SNC-LI), se obtuvo el dato de 43 días, siendo la biodegradación observada posiblemente debida al consumo de las grasas contenidas en la mezcla de lirio acuático adicionado al suelo no contaminado.

**Tabla 2.** Parámetros cinéticos durante el proceso de co-compostaje con el inoculante inmovilizado en presencia de diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000 mg kg<sup>-1</sup>) y una relación C/N de 15 después de 20 días de cultivo.

Tx	B (%)	TCG <sup>b</sup> (mg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	TCM <sup>c</sup> (mg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	-k <sup>d</sup> (d <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sup>e</sup>	t <sub>1/2</sub> (días)	Periodo de obtención de la TCM <sup>f</sup> (días)
SNC-LI	28.2 <sup>a</sup> ± 4.6	57.171 ± 9.382	228.684 ± 37.526	-0.017	0.99 <sup>d</sup>	42.8 ± 8.6	15 - 20
SC15_LI	32.1 ± 1.0	212.656 ± 6.883	1,045.235 ± 20.379	-0.016	0.87	44.7 ± 1.8	15 - 20
SC25-LI	32.4 ± 1.6	381.195 ± 18.843	1,640.691 ± 107.487	-0.020	0.80	35.5 ± 2.2	10 - 15
SC35-LI	35.2 ± 0.4	595.850 ± 28.729	2,321.138 ± 26.862	-0.021	0.91	32.0 ± 0.5	10 - 15

En la tabla: suelo no contaminado inoculado con lirio (SNC-LI); suelo contaminado 15 g kg<sup>-1</sup> inoculado con lirio (SC 15-LI); suelo contaminado 25 g kg<sup>-1</sup> inoculado con lirio (SC 25-LI); suelo contaminado 35 g kg<sup>-1</sup> inoculado con lirio (SC 35-LI). Los valores representan los promedios de tres réplicas de cada muestra.

<sup>a</sup> Corresponde a la biodegradación de las grasas extraídas de la mezcla de suelo no contaminado y lirio acuático.

<sup>b</sup> Tasa de consumo global (mg kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)

<sup>c</sup> Tasa de consumo máxima (mg kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)

<sup>d</sup> Constante de biodegradación calculada con base en modelo de 1er orden a 20 días de cultivo.

<sup>e</sup> Coeficiente de correlación (Ln C/C<sub>0</sub> vs t). Ajuste al modelo de 1er orden ( $C-C_0e^{-kt}$ )

<sup>f</sup> Se refiere al intervalo en el que se alcanzó la tasa de consumo máxima con los datos de hidrocarburos residuales.

Pinto & Sánchez (2018) reportaron biodegradación sobre hidrocarburos rango diésel de las cepas bacterianas *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas putida*, utilizadas como inoculantes independientes, obteniendo un 57.14 y 51.94% de biodegradación, respectivamente. Por otro

lado, para gasolina, registraron una biodegradación del 63.27% con *P. putida* y un 69.38% con *A. baumannii* en 60 días de experimentación. Concluyeron que, las bacterias antes mencionadas fueron competentes para biodegradar hidrocarburos en un nivel mayor que utilizando atenuación natural.

En el presente trabajo los niveles de biodegradación, usando un cultivo mixto definido estandarizado e inmovilizado, fueron mayores al 30% en sólo 20 días de cultivo. Obteniendo tasas de consumo máximas entre 1,000 a 2,400 mg kg<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>, lo que indica un alto potencial de biodegradación del inoculante probado.

Por otra parte, Cuadros *et al.*, (2021), implementaron las técnicas de bioaugmentación y bioestimulación como biorremediación en un suelo contaminado con HTP, durante 12 semanas, para comparar la eficiencia de cada técnica adicionando bacterias tipo *Pseudomonas* y humus de lombrices rojas californianas juntas en un mismo biorreactor. Concluyeron que, la bioaugmentación fue la técnica más efectiva para degradar hidrocarburos, ya que, con una concentración inicial de 29,430.4 mg kg<sup>-1</sup>, valor cercano a concentración analizada en el presente trabajo, obtuvieron un 75.4% de biodegradación de HTP, en comparación con la bioestimulación de 54.9%, en el mismo período de tiempo. Estos satisfactorios resultados fueron obtenidos con bioaugmentación, misma técnica empleada en el presente trabajo. Cabe señalar que, en el trabajo de Cuadros *et al.*, (2021) el período de tiempo analizado fue más largo (12 semanas).

Angelito (2019), usando el mismo inoculante microbiano y lirio acuático durante el co-compostaje de un suelo altamente intemperizado reportó niveles de biodegradación de entre 9% - 16%, con tasas de consumo global de entre 190 a 250 mg kg<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>, en 50 días de cultivo.

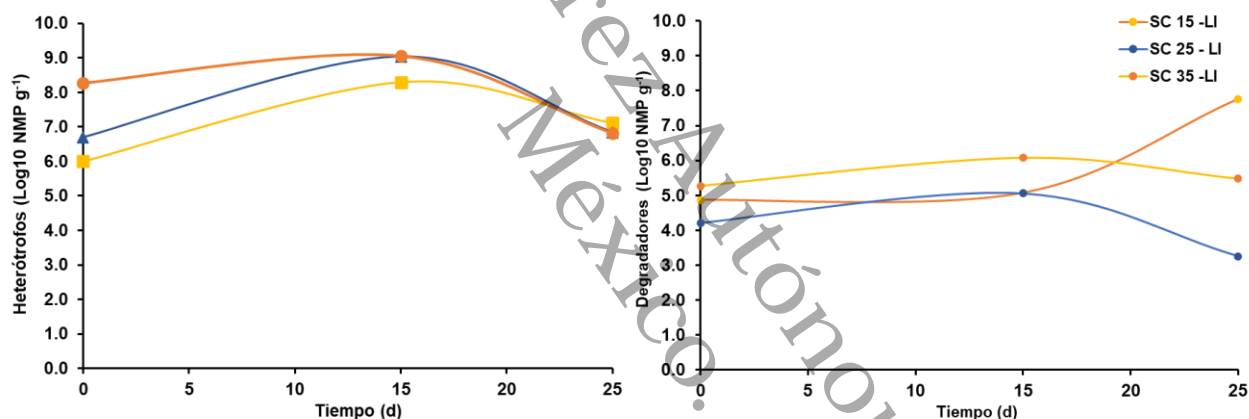
El uso de suelo artificialmente contaminado a diferentes concentraciones, en el presente trabajo, permitió evidenciar que la estrategia de aplicación del inoculante puede ser aplicable a un amplio rango de concentraciones, permitiendo reducir la concentración y el tiempo de vida media de los hidrocarburos.

### **7.5 Análisis microbiológicos: Microorganismos heterótrofos totales y degradadores**

Los microorganismos que se encuentran presentes en nuestros ecosistemas son estimulados mediante condiciones específicas para resolver problemas actuales en el medio ambiente (Ostos *et al.*, (2019)., integrándose para tratamientos de biodegradación (eliminando contaminantes que se encuentran en agua, suelo y en sedimentos), control de plagas, descomposición de la basura, etc.; de esta manera, impidiendo mayor contaminación y restaurando el entorno natural (Rafeeq *et al.*, 2023).



Se puede observar en la Figura 11 la cinética de crecimiento de los microorganismos heterótrofos totales y degradadores de hidrocarburos durante el proceso de co-compostaje utilizando en este parámetro el software Most Probable Number (MPN) Calculator, (EPA, 2020), con el estadístico de NMP de Cornish & Fisher a un límite de confianza de 95% para calcular los valores de NMP. Respecto al Panel A, para los microorganismos heterótrofos totales, se obtuvieron valores iniciales de  $1.01 \times 10^6$ ,  $4.98 \times 10^6$  y  $1.86 \times 10^8$  NMP/g para SC 15 – LI, SC 25 – LI y SC 35 – LI, respectivamente. Transcurrido los primeros 15 días de experimento, los tres tratamientos obtuvieron un incremento de poblaciones bacterianas en cada una de ellas con un 38% en SC 15 – LI, un 35% en SC 25 – LI y un 9% para SC 35 – LI; haciendo énfasis que el tratamiento de SC 15 – LI alcanzó el porcentaje más alto de incremento. Al finalizar el experimento en el día 25, se obtuvo una disminución de los microorganismos heterótrofos presentes con valores aproximados de 14% para SC 15 – LI y un 24% para SC 25 – LI y SC 35 – LI.



**Figura 11.** Cinética de crecimiento de microorganismos heterótrofos (Panel A) y de degradadores (Panel B) de hidrocarburos (alifáticos) durante el proceso de co-compostaje con diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000 mg kg<sup>-1</sup>) y una relación C/N de 15. En la figura: suelo contaminado 15 g kg<sup>-1</sup> inoculado con lirio (SC 15-LI); suelo contaminado 25 g kg<sup>-1</sup> inoculado con lirio (SC 25-LI) y suelo contaminado 35 g kg<sup>-1</sup> inoculado con lirio (SC 35-LI). Los valores del NMP fueron calculados usando el software Most Probable Number (MPN) Calculator, (EPA, 2020), usando el estadístico de NMP de Cornish & Fisher a un límite de confianza de 95%

Referente al Panel B, los microorganismos degradadores, los valores iniciales obtenidos fueron de  $1.644 \times 10^4$  en SC 25 – LI con el valor inicial más bajo en comparación con el resto de los tratamientos, seguido de  $7.41 \times 10^4$  y  $1.86 \times 10^5$  NMP/g para SC 15 – LI y SC 35 – LI, respectivamente. A los 15 días de experimentación, se obtuvieron incrementos en cada tratamiento con un 4% para SC 15 – LI, 20% para SC 25 – LI con el valor más alto de incremento para este tiempo, y finalmente, un 15% para SC 35 – LI. Al día 25 del experimento, el SC 15 – LI resultó el único tratamiento con incremento, resultando un 53%, con valor final de  $5.83 \times 10^7$

NMP/g; en comparación con los otros dos tratamientos que obtuvieron decremento para cada uno con valores finales de  $1.79 \times 10^3$  y  $3.0 \times 10^5$  NMP/g para SC 25 – LI y SC 35 – LI, respectivamente.

En la tabla 3 se muestran los resultados del contenido de microorganismos heterótrofos totales y degradadores durante el proceso de co-compostaje con el inoculante inmovilizado en presencia de diferentes concentraciones, al inicio y a los 15 días de cultivo. Se analiza que el tratamiento SC 35 – LI obtuvo los valores más altos en microorganismos heterótrofos tiempo inicial y de igual manera en microorganismos degradadores para tiempo inicial y a los 15 días de experimento, siendo 10 veces mayor respecto a SC 15 – LI y SC 25 – LI en degradadores a los 15 días; paralelamente, 187.5 y 38.6 veces mayor respecto a SC 15 – LI y SC 25 – LI en heterótrofos en tiempo inicial. En relación con la proporción respecto a los totales (%), el tratamiento SC 15 – LI obtuvo el valor inicial más alto; y para el valor final, el tratamiento SC 35 – LI resultó con el valor más alto con un valor de 0.105.

**Tabla 3.** Contenido de microorganismos heterótrofos totales y de degradadores (hexadecano,  $17,000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) durante el proceso de co-compostaje con el inoculante inmovilizado en presencia de diferentes concentraciones ( $15,000$ ,  $25,000$  y  $35,000 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y una relación C/N de 15, al inicio y a los 15 días de cultivo.

Tratamiento	Heterótrofos (Log10 NMP g <sup>-1</sup> )		Degradadores (Log10 NMP g <sup>-1</sup> )		Proporción respecto a los totales (%)	
	Inicial (x10 <sup>5</sup> )	15 días (x10 <sup>8</sup> )	Inicial (x10 <sup>3</sup> )	15 días (x10 <sup>4</sup> )	Inicial <sup>a</sup>	Final <sup>b</sup>
SC 15 -LI	1.28	0.24	9.33	1.47	11.48	0.061
SC 25 - LI	6.22	1.41	2.04	1.47	2.36	0.010
SC 35 -LI	240.00	1.40	24.00	14.7	0.61	0.105

<sup>a</sup> Calculado considerando los valores del NMP de microorganismos degradadores (a los 15 días) respecto al contenido inicial de los heterótrofos totales.

<sup>b</sup> Calculado considerando los valores del NMP de microorganismos degradadores respecto al contenido de los heterótrofos totales, ambos a los 15 días.

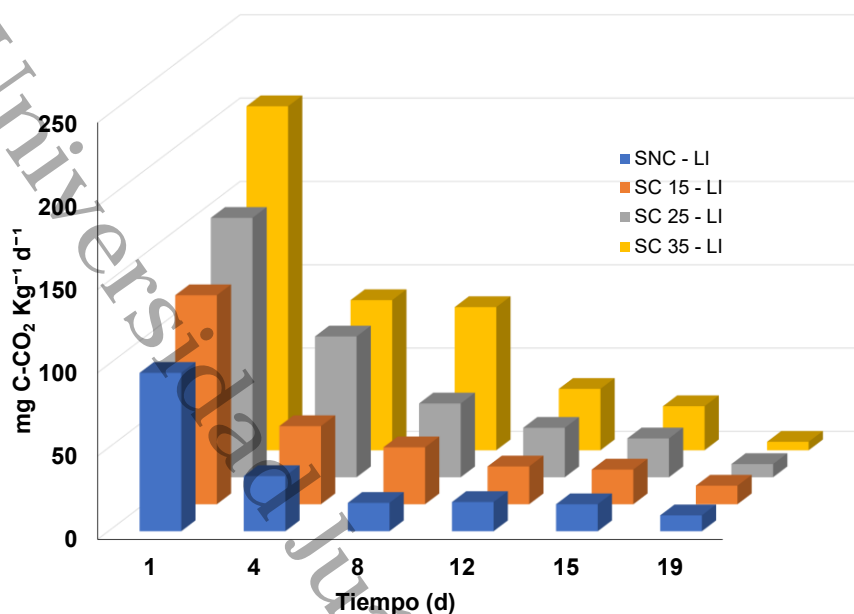
## 7.6 Mineralización de hidrocarburos durante el co-compostaje y bioaumentación de suelo contaminado en presencia de diferentes niveles concentración de hidrocarburos totales de petróleo.

La respiración del suelo proviene de la producción total de dióxido de carbono en un área y tiempo determinados, esto es el resultado de la oxidación química de los compuestos de carbono encontrados en el ambiente llevada a cabo por los microorganismos. El monitoreo del C-CO<sub>2</sub>

ayuda a evaluar la actividad metabólica del suelo o la respuesta a un tratamiento (Rosero *et al.*, 2019).

En la Figura 12 se presentan los resultados de la producción de CO<sub>2</sub> (expresada como los miligramos de C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> de suelo) registrada durante el co-compostaje de suelo en presencia del inoculante inmovilizado, como una función de la concentración de hidrocarburos a un nivel de C/N de 15. Puede observarse que la mineralización en presencia del inoculante inmovilizado tuvo una respuesta positiva con relación a la concentración de los hidrocarburos. Al comienzo del análisis, se pudo observar que el tratamiento de suelo contaminado a 35 ppm (SC 35 – LI) registró el valor de C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> más alta (206 C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>), seguido del suelo contaminado a 25 ppm (SC 25 – LI y 15 ppm (SC 15 – LI, cuyos valores fueron 155 y 125 C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> respectivamente. Resultados similares obtuvo Angelito (2019), donde analizó la respiración de un suelo intemperizado altamente contaminado con hidrocarburos durante la aplicación de lirio acuático como co-compostaje, cuyo valor transcurrido 15 días del tratamiento oscilaron entre 139.1-198.4 C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>. El perfil de actividad respiratoria reportado en el trabajo mencionado es similar al del presente trabajo; no obstante, las condiciones de los tratamientos en el presente trabajo (adición del co-compostaje e inoculante bacteriano desde el inicio del bioproceso) favoreció la respiración del suelo, reflejándose en una mayor producción de C-CO<sub>2</sub>. Podemos observar que el suelo no contaminado (SNC – LI) registró el valor más bajo en un intervalo de 95 y 9.5 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> durante el proceso. Resultados semejantes obtuvieron Hernández *et al.* (2018) quienes evaluaron el efecto del lirio acuático como parte de biorremediación en suelo contaminado por hidrocarburos proveniente de Cunduacán, Tabasco, donde obtuvieron un valor de 9.84 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> aproximadamente después de 56 días de monitoreo.

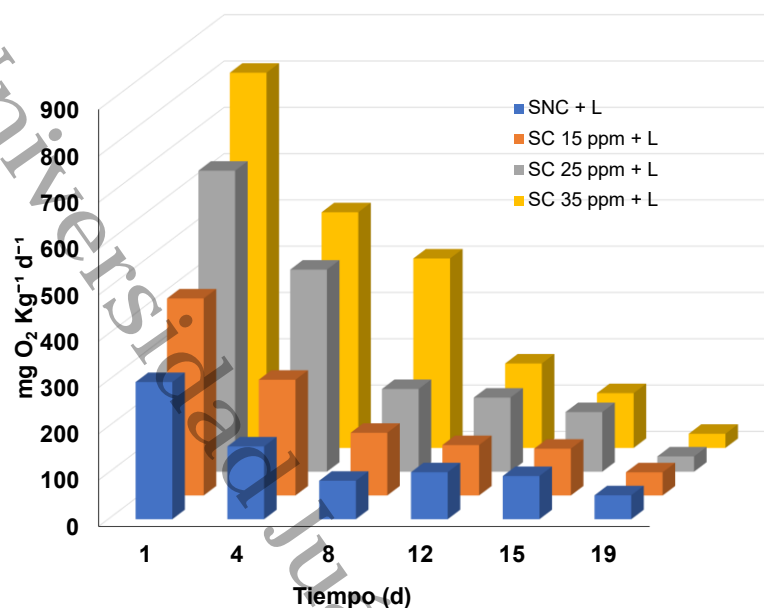
En general, se puede ver que el comportamiento entre todos los tratamientos fue similar, haciendo énfasis en los días 1 a 4 ya que en este periodo se dieron las mayores tasas de respiración, posteriormente las tasas fueron disminuyendo con el paso del tiempo, estos resultados son concordantes con los presentados anteriormente para la actividad lipasa donde entre el día 5 y 15 del cultivo se apreció una mayor actividad para el SC 25 – LI y SC 35 – LI.



**Figura 12.** Tasas de producción de CO<sub>2</sub> expresado como mg de C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> (mineralización) de hidrocarburos durante el proceso de co-compostaje de suelo contaminado a diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000 mg kg<sup>-1</sup>). Estos valores corresponden al C contenido en el CO<sub>2</sub> acumulado en muestras triplicadas durante 24 horas de cultivo y medición continua.

El consumo de oxígeno (presentado en la Figura 13) presentó el valor más alto para el suelo contaminado a 35 g kg<sup>-1</sup> con un valor de 818.5 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, lo cual coincide la tasa de mineralización más alta con 206.4 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> para ese mismo tratamiento. Para el suelo no contaminado (SNC – LI), la variación no fue muy alta en comparación con el resto de los tratamientos de suelo contaminado. Posteriormente, todos los tratamientos registraron un decrecimiento en el oxígeno consumido hasta el día 19 donde el suelo no contaminado presentó el mayor valor consumido, sin embargo, para este tiempo del bioproceso ya no había diferencias estadísticamente significativa entre los tratamientos.

En general, se pudo observar que la disminución de consumo de oxígeno fue paulatina, teniendo su mayor desarrollo entre los días 1 a 12, a partir del día experimental 15 pudimos observar cómo se estabilizó el decrecimiento de consumo hasta el día 19. García *et al.* (2011) analizaron un suelo contaminado con lodos aceitosos a una concentración de 40,000 mg kg<sup>-1</sup> adicionando sales inorgánicas simples y un suelo control, después de 13 días de monitoreo registraron un consumo de 502.05-936.65 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.



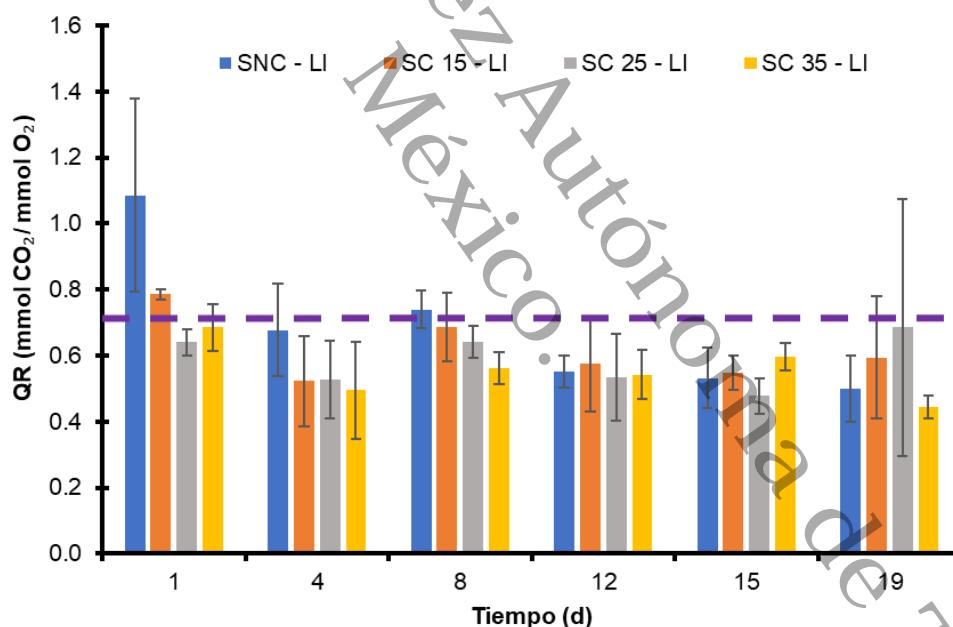
**Figura 13.** Tasa de consumo de  $O_2$ , expresado como  $mg O_2 kg^{-1} d^{-1}$ , durante el bioproceso de co-compostaje en suelos contaminados por hidrocarburos a diferentes concentraciones y un suelo no contaminado ( $15,000$ ,  $25,000$  y  $35,000 mg kg^{-1}$ ). Los valores representan el triplicado para cada muestra en un periodo de 24 horas y medición continua.

### 7.6.1 Coeficiente respiratorio

El coeficiente de respiración (QR) es un indicador adimensional de respiración que depende del sustrato utilizado para la actividad metabólica microbiana, midiendo la relación molar entre producción de  $CO_2$  y consumo de  $O_2$ . La determinación de los valores QR proporciona información sobre la actividad respiratoria producto del metabolismo microbiano durante la biodegradación de los contaminantes, y depende entre otros factores del tipo de compuestos que se estén oxidando y de las condiciones medioambientales (Tran *et al.*, 2021; Romer-Kutzner *et al.*, 2015; Chang & Ghoshal, 2014).

En la Figura 14 se pueden observar los valores de coeficiente de respiración obtenidos durante la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos a diferentes concentraciones por medio de co-compostaje, adicionando lirio acuático y un inoculante bacteriano. Se obtuvieron valores promedio de QR  $<1$ , a excepción del suelo no contaminado (SNC – LI) al inicio del ensayo, el cual obtuvo valor de 1.08. Estos resultados son similares a los reportados por Lamy *et al.* (2013) donde el resultado inicial de QR para un suelo bajo biorremediación experimental en un laboratorio durante un proceso de 14 días fue superior a 1 durante los primeros 2 días de cultivo, los autores sugieren que esto puede ser resultado de procesos anaeróbicos prevalecientes bajo condiciones limitadas de presencia de oxígeno o de la influencia de la adición de fuentes de nitrógeno o fósforo, como es el caso de este trabajo. De acuerdo con Romer-

Kutzner *et al.*, 2015 cuando un organismo oxida carbohidratos, su tasa de producción de CO<sub>2</sub> y su tasa de consumo de O<sub>2</sub> son iguales, es decir QR=1). En el caso de compuestos altamente reducidos, como los hidrocarburos usados, el valor de QR teórico es de alrededor de 0.7 a 0.9 (indicado con la línea morada). Esto significa que los valores menores a 0.9 (Figura 14), estarían indicando que el O<sub>2</sub> consumido es > el CO<sub>2</sub> producido, y explica una alta asimilación de oxígeno que explica la alta tasa de biotransformación de las fuentes de carbono (Tabla 2) en comparación con el suelo no contaminado (durante los primeros 8 días de cultivo). Para los tratamientos SC 15 – LI, SC 25 – LI y SC 35 – LI, se determinaron valores promedio de QR (calculados como el QR global) de 0.4 a 0.7, observándose que hubo una mayor mineralización en los primeros 8 días del bioproceso (valores de QR cercanos a 0.7); mientras que entre los días 12 - 19, el QR se redujo y se mantuvo estable con valores menores a 0.6. Estos resultados, son comparables con los datos obtenidos por Chang & Ghoshal (2014) para diferentes grupos de hidrocarburos, con un rango de 0.65-0.8.



**Figura 14.** Coeficiente respiratorio calculado durante el bioproceso de co-compostaje en suelos contaminados por hidrocarburos a diferentes concentraciones (15,000, 25,000 y 35,000 mg kg<sup>-1</sup>) y suelo no contaminado. Los valores representan el triplicado para cada muestra en un periodo de 24 horas y medición continua.

Este comportamiento altamente oxidativo, (mayor consumo de O<sub>2</sub> respecto al CO<sub>2</sub> producido), evidencia la capacidad biodegradadora del inoculante desarrollado en el presente trabajo en presencia de altas concentraciones de hidrocarburos y un balance inicial de la C/N de alrededor de 15.

## **CONCLUSIONES**

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

De acuerdo con los resultados obtenidos al finalizar el ensayo de co-compostaje utilizando un inoculante bacteriano estandarizado junto con lirio acuático como acondicionador orgánico, durante la biorremediación de un suelo artificialmente contaminado a diferentes concentraciones se puede concluir lo siguiente:

Los valores de pH y conductividad eléctrica no presentaron variaciones significantes a lo largo del tratamiento, manteniéndose en la neutralidad (en el caso del pH) y despreciable de salinidad (en el caso de la CE).

El inoculante bacteriano resultó eficiente para la remoción de contaminante en las diferentes concentraciones, obteniendo valores de  $28.2 \pm 4.6$  para el suelo no contaminado,  $37.1 \pm 2.7$  para el suelo contaminado a  $15 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $32.4 \pm 1.6$  para el suelo contaminado a  $25 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $33.7 \pm 2.6$  para el suelo contaminado a  $35 \text{ mg kg}^{-1}$  en solo 20 días de cultivo. Respecto a las tasas de consumo máximas, estas estuvieron en rangos entre 1,200 a  $2,400 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , lo que indica un alto potencial de biodegradación del inoculante probado. Entonces, la presencia del inoculante propició la obtención de tasas muy elevadas de remoción de HTP en los diferentes tratamientos.

El inoculante bacteriano junto con el lirio acuático ayudaron en el incremento de la actividad lipasa para todos los tratamientos, incluso en el suelo no contaminado se observó una gran actividad de microorganismos la cual se mantuvo hasta el final del bioproceso (20 días). Se observó una tendencia de incremento de la actividad lipasa a los 15 días de cultivo, en particular el SC 15 – LI y SC 25 – LI registraron su actividad máxima con valores de 451.05 y 852.24  $\mu\text{g}$  de pNP  $\text{g}^{-1}$  de suelo seco  $\cdot 10 \text{ min}$  respectivamente. De igual manera, para microorganismos degradadores, se obtuvieron incrementos en cada tratamiento en el día 15 con un 4% para SC 15 – LI, 20% para SC 25 – LI con el valor más alto de incremento para este tiempo, y finalmente, un 15% para SC 35-LI.

El perfil respirométrico permitió analizar el comportamiento durante los 19 días de monitoreo para la producción de  $\text{CO}_2$  y consumo de  $\text{O}_2$ , observando que la mineralización fue aumentando respecto a la concentración, siendo el valor más alto para el suelo contaminado a  $35 \text{ mg kg}^{-1}$  con una tasa de mineralización de  $206.4 \text{ mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  (coincide con la producción de oxígeno más alto  $818.5 \text{ mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$  para el mismo tratamiento). Los resultados obtenidos de QR indicaron que los tratamientos SC 15 – LI, SC 25 – LI y SC 35 – LI, donde se determinaron valores promedio de QR (calculados como el QR global) de 0.4 a 0.7, hubo una mayor mineralización en los primeros 8 días del bioproceso (valores de QR cercanos a 0.7); mientras que entre los días 12 - 19, el QR se redujo y se mantuvo estable con valores menores a 0.6.



Con base en los valores positivos obtenidos en los diferentes parámetros el inoculante bacteriano resultó eficiente en el intervalo de las concentraciones experimentales probadas. Lo cual permite inferir que su aplicación es una estrategia viable para la remediación biológica en suelos tropicales altamente contaminados por hidrocarburos totales de petróleo.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## 7. REFERENCIAS

- Aguilera, H. N. & Domínguez, V. I. (1980). *Metodología de análisis físico-químicos de suelos*. México: Facultad de ciencias, UNAM.
- Alegría Hernández, B.A., Morales Bautista, C.M., Torres Sánchez, S.A. & Alor Chávez, M. (2019). Evaluación de los cambios en las concentraciones de Hidrocarburos Totales del Petróleo en dos tipos de suelos. *JEEOS*, 3(2), 19-32.
- Ali, S., Khan, S.A., Hamayun, M. & Lee, I. J. (2023). The Recent Advances in the Utility of Microbial Lipases: A Review. *Microorganisms*, 11(510), 1-26. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020510>.
- Angelito-García, A. Fócil-Monterrubio, R., Mejía-Vera, H., Escalante-Espinosa, E., & Díaz-Ramírez, I.J. (2018). Adición de inoculante experimental y lirio acuático en la biorremediación de suelo contaminado intemperizado con hidrocarburos. *Revista del centro de graduados e investigación. Instituto Tecnológico de Mérida*. 33: 73, 175-178.
- Angelito García, A. (2019). Biorremediación de suelo intemperizado contaminado con hidrocarburos mediante co-compostaje con *Eichhornia crassipes* y un inoculante bacteriano [Tesis de Licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco].
- Barrios-Ziolo, L. F., Robayo-Gómez, J., Prieto-Cadavid, S., & Cardona-Gallo, S. A. (2015). Biorremediación de Suelos Contaminados con Aceites Usados de Motor. *Revista CINTEX*, 20(1), 69–96, <https://revistas.pascualbravo.edu.co/index.php/cintex/article/view/31>
- Barleló Quintal, I.D., Cetina Alcalá, V.M., Noyola Martínez, L., García Albornate, J., Tello Espinosa, P. & Salazar Peláez, M.L. (2019). Aprovechamiento de residuos de lirio acuático y excretas de borrego para preparar compost. *Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, 1-8.
- Beaudin, N., Caron, R. F., Legros, R., Ramsay, J., Lawlor, L. & Ramsay, B. (1996). Cocomposting of Weathered Hydrocarbon-Contaminated Soil. *Compost Science & Utilization*, 4(2), 37-45. <http://dx.doi.org/10.1080/1065657X.1996.10701828>
- Bohórquez, A., Puentes, Y.J. & Menjivar J.C. (2014). Evaluación de la calidad del compost producido a partir de subproductos agroindustriales de caña de azúcar. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15(1), 73-98.

- Burbano Orjuela, H. (2018). El carbono orgánico del suelo y su papel frente al cambio climático. *Revista de ciencias agrícolas*, 35(1), 82-96.
- Chan-Quijano, J. G., Jarquín-Sánchez, A., Ochoa-Gaona, S., Martínez-Zurimendi, P., López-Jiménez, L. N., & Lázaro-Vázquez, A. (2015). Directrices para la remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Teoría y Praxis*, (17), 123-144. <https://www.redalyc.org/pdf/4561/456144902006.pdf>
- Chang, W., & Ghoshal, S. (2014). Respiratory quotients as a useful indicator of the enhancement of petroleum hydrocarbon biodegradation in field-aged contaminated soils in cold climates. *Cold Regions Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2014.06.010>
- Cherlinka, V. (2022). Deficiencia de nitrógeno en las plantas: cómo repararlo. *EOS Data Analytics*. <https://eos.com/es/blog/deficiencia-de-nitrogeno-en-las-plantas/#:~:text=La%20falta%20de%20nitr%C3%B3geno%20est%C3%A1,debido%20al%20exceso%20de%20agua>.
- Chilon Camacho, E. & Chilon Molina, J. (2015). Compostaje Altoandino, seguridad alimentaria, cambio climático y biorremediación de suelos. *CienciaAgro* 1(1), 43-56. [http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/scielo.php?pid=S2072-14042015000100006&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://www.revistasbolivianas.ciencia.bo/scielo.php?pid=S2072-14042015000100006&script=sci_arttext&tlng=es)
- Contreras, H. & Carreño, C. (2018). Eficiencia de la biodegradación por hongos filamentosos aislados del suelo contaminado. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería* 1(1), 27-33. <http://dx.doi.org/10.25127/ucni.v1i1.269>
- Cuadros P. A. D., Blanco Zuñiga, C.R. & Rojas Arias, N. (2021). Efficiency of biostimulation and bioaugmentation processes in the treatment of soils contaminated with hydrocarbons. *Journal of Applied Research and Technology*, 19(5), 540-547.
- Díaz-Ramírez, I. J., Escalante Espinosa, E., Favela-Torres, E., Gutiérrez-Rojas, M., & Ramírez-Saad, H. (2008). Design of bacterial defined mixed cultures for biodegradation of specific crude oil fractions, using population dynamics analysis by DGGE. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62, 21-30. doi:10.1016/j.ibiod.2007.11.001.
- Epstein, P. (1998). Weeds bring disease to the east African waterways. *Lancet*, 35, 577. doi:10.1016/S0140-6736(05)78570-6.

- Escorza-Núñez, J. G. (2010). *Estudio de inóculos bacterianos como biorremediadores de suelos contaminados con petróleo* [Tesis de licenciatura, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/220>
- Espinoza-Acosta, J. L., Montaña-Leyva, B., Valencia-Rivera, D. E., Ledesma-Osuna, A. I. & Vega-Rios, A. (2022). Extracción, caracterización y actividad antioxidante de lignina de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y cáscara de nuez pecanera (*Carya illinoensis*). *Biotecnia*, 24(2), 94–103. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i2.1642>
- Farinango Guzmán, W.A., Ulcuango Echeverría, B. F., Gualavisi Cachiguango, O. M., Reinoso Quishpe, D. A., Espinosa Cuzco, G. & Andrade Muñoz, L.B. (2020). Evaluación de la variabilidad de cuatro propiedades del suelo al incorporar dos fuentes de compost a tres dosis. *Polo del Conocimiento*, 5(2), 860-882.
- García, E., Roldán, F. & Garzón, L. (2011). Evaluación de la bioestimulación (nutrientes) en suelos contaminados con hidrocarburos utilizando respirometría. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1), 195-208. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-548X2011000100015&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2011000100015&lng=en&tlng=es)
- Garrido Atencia, J.J. & Licona Polo, M.M. (2017). *Caracterización fisicoquímica de los suelos agrícolas del Distrito de riego del municipio de Repelón, Atlántico* [Tesis de Licenciatura, Universidad de la Costa (CUC)]. <https://repositorio.cuc.edu.co/bitstream/handle/11323/339/1140890180-1140883978.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gomes Motta, J. F., Bastos de Freitas, B.C., Fernando de Almeida, A., De Souza Martins, G. A. & Vilela Borges, S. (2023). Use of enzymes in the food industry: a review. *Food Science and Technology*, 43, 1-14. <https://doi.org/10.1590/fst.106222>
- González Díaz, V. (2014). Evaluación de la actividad biológica y potencial de biodegradación de un suelo contaminado por hidrocarburos [Tesis de Licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco].
- Guevara Granja, M.F. & Ramírez Cando, L.J. (2015). *Eichhornia crassipes*, su invasividad y potencial fitorremediador. *La Granja; Revista de Ciencias de la Vida*, 22(2), 5-11.
- Hernández Pérez, L. M., Fócil, Monterrubio, R. L., Escalante Espinosa, E., Volke Sepúlveda, T. & Díaz Ramírez, I. J (2018). Respiración microbiana y actividad lipasa durante el co-

- compostaje de suelo contaminado con hidrocarburo. Congreso Nacional AMICA. <http://www.amica.com.mx/issn/Tabasco/AMI-186.pdf>
- Humphrey, T. K., & Dube, T. (2018). Remote sensing of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): A review on applications and challenges. *Remote Sensing Applications: Society and Environment*, 10, 36-46. doi:10.1016/j.rase.2018.02.005
- Jiménez Moleón, M.C., Lucero Chávez, M. & Caballero Viñas, J. (2016). Estudios sobre diversas compostas de lirio acuático (*E. crassipes*) y lodo residual. *Centro Interamericano de Recursos del Agua (CIRA), Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de México*.
- Kawai, K., Liu, C. & Dickella Gamaralalage, P. J. (2020). *CCET guideline series on intermediate municipal solid waste treatment technologies: Composting*.
- Lamy, E., Tran, T. C., Mottelet, S., Pauss, A., & Schoefs, O. (2013). Relationships of respiratory quotient to microbial biomass and hydrocarbon contaminant degradation during soil bioremediation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 83, 85-91. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.04.015>
- Lebeau, T. (2011). Bioaugmentation for In Situ Soil Remediation: How to Ensure the Success of Such Process. En A. Singh *et al.* (Eds.). *Bioaugmentation, Bioestimulation and Biocontrol. Soil Biology*, 28, (129-186).
- Lorch, H. J., Benckieser, G., & Ottow, J. C. G. (1995). Basic methods for counting microorganisms in soil and water. En: Alef, K., y Nannipieri, P. (Eds). *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press. Great Britain: London, 146-161.
- Madueño, L. (2013). *Obtención de inoculantes bacterianos y evaluación de su aplicación en procesos de biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) de la Patagonia semiárida*. [Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Exactas].
- Medina Lara, M. S., Quintero Lizaola, R., Espinosa Victoria, D., Alarcón, A., Etchevers Barra, J. D., Trinidad Santos, A. & Conde Martínez, F. V. (2018). Generación de un inoculante acelerador del compostaje. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2), 206-210.
- Muñoz-Iniestra, D. J., Soler-Aburto, A., López-Galindo, F., & Hernández-Moreno, M. M. (2013). *Edafología: Manual de métodos de análisis de suelos. 1ª Edición*. UNAM, México.

- Muthukumar, B., Surya, S., Sivakumar, K., AlSalhi, M.S., Rao, T.N., Devanesan, S., Arunkumar, P. & Rajasekar, A. (2022). Influence of bioaugmentation in crude oil contaminated soil by *Pseudomonas* species on the removal of total petroleum hydrocarbon. *Chemosphere*, 310. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653522033197>
- Nagkirti, P., Shaikh, A., Vasudevan, G., Paliwal, V. & Dhakephalkar, P. (2017). Bioremediation of Terrestrial Oil Spills: Feasibility Assessment. En: Purohit, H., Kalia, V., Vaidya, A. & Khardenavis, A. (Eds) *Optimization and Applicability of Bioprocesses (141-173)*. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-6863-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6863-8_7)
- Notario-Acosta, S.T., Fócil-Monterrubio, R.L., Escalante-Espinosa, E. & Díaz-Ramírez, I.J. (2018). Biorremediación de suelos con diferente historia de contaminación por hidrocarburos adicionados con lirio acuático como acondicionador. *Revista del centro de graduados e investigación. Instituto tecnológico de mérida*. 33:73, 259-262.
- Omokhagbor Adams, G., Tawari Fufeyin, P., Eruke Okoro, S. & Ehinomen, I. (2015). Bioremediation, Biostimulation, and Bioaugmentation: A Review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3 (1), 28-39.
- Ordoñez Burbano, D.E., Abella Medina, C.A., Echeverry Tamayo, A., Paz Lasprilla, L.M. & Benítez Campo, N. (2018). Biodegradación de hidrocarburos alifáticos saturados por microorganismos aislados de suelo contaminado con derivados del petróleo. *Revista de Ciencias*, 22(2), 33-44.
- Ortínez, O., Ize, I., & Gavilán, A. (2003). La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México. *Gaceta Ecológica*, (69),83-92.
- Ostos Ortíz, O. L., Rosas Arango, S. M. & González Devia, J. L. (2019). Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. *NOVA*, 17(31), 129-163.
- Otiniano, N.M., Rojas Villacorta, W., De La Cruz Noriega, M., Lora Cahuas, C., Mendoza Villanueva, K., Benites, S.M., Gallozzo Cardenas, M. & Rojas Flores, S. (2022) Effect of Inoculum Concentration on the Degradation of Diesel 2 by a Microbial Consortium. *Sustainability*, 14(16750), 1-13. <https://doi.org/10.3390/su142416750S>.
- Pandolfo, E., Barra Caracciolo, A. & Rolando, L. (2023) Recent Advances in Bacterial Degradation of Hydrocarbons. *Water*, 15(375), 1-18. <https://doi.org/10.3390/w15020375>.

- Patel, S. (2012). Threats, management and envisaged utilizations of aquatic weed *Eichhornia crassipes*: an overview. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11:249-259. DOI 10.1007/s11157-012-9289-4.
- Pérez Montero, S., Ramírez Díaz, I. J. & Escalante Espinosa, E. (2012). Aplicación y beneficios de los inóculos bacterianos en la fitorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos. *Kuxulkab' Revista de Divulgación*, 18(35), 39-44.
- Pinto Varón, D.L. & Sánchez Vargas, V.D. (2018). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante la utilización de diferentes cepas bacterianas a escala de laboratorio* [Tesis de Licenciatura, Universidad Libre de Colombia]. <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/15451/Proyecto%20de%20investigaci%C3%B3n%20Biorremediaci%C3%B3n%20de%20suelos%20contaminados%20por%20hidrocarburos%20mediante%20la%20ut.pdf?sequence=1>
- Powers, L. E. & McSorley, R. (2001). *Principios ecológicos en agricultura*. España: Paraninfo.
- Qiao, X., Zheng, B., Li, X., Zhao, X., Dionysiou, D. D., & Liu, Y. (2021). Influencing factors and health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in groundwater in China. *Journal of Hazardous Materials*, 402(123419), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123419>
- Quispe Baldeón, L., Arias Chávez, J. B., Martínez Suarez, C. F. & Cruz Huaranga, M. (2017). Eficiencia de la especie macrófita *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua) para la remoción de parámetros fisicoquímicos, metal pesado (Pb) y la evaluación de su crecimiento en función al tiempo y adopción al medio en una laguna experimental. *Revista de Investigación Ciencia, Tecnología y Desarrollo*, 3(1), 79-93.
- Rafeeq, H., Afsheen, N., Rafique, S., Arshad, A., Intisar, M., Hussain, A., Bilal, M. & Iqbal, H. (2023). Genetically engineered microorganisms for environmental remediation. *Chemosphere*, 310(136751), 1-14.
- Rai, PK. (2009). Heavy metal phytoremediation from aquatic ecosystems with special reference to macrophytes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39, 697-753. DOI: 10.1080/10643380801910058
- Ramírez, P. (2022). Pemex registra 176 derrames y fugas de alto impacto ambiental de 2018 a 2021. *Causa Natura*. <https://causanatura.org/periodismo-cn/pemex-registra-176-derrames-y-fugas-de-alto-impacto-ambiental-de-2018-a->

2021#: :text=A%20nivel%20nacional%2C%20de%20los,agua%2C%20principalmente%20derivados%20de%20hidrocarburo.

- Reyes Ramírez, A., López Arcos, M., Ruiz Sánchez, E., Latournerie Moreno, L., Pérez Gutiérrez, A., Lozano Contreras, M.G. & Zavala León, M.J. (2014). Efectividad de inoculantes microbianos en el crecimiento y productividad de chile habanero (*capsicum chinense jacq.*). *Agrociencia* 48(3), 285-294.
- Riveroll-Larios, J., Escalante-Espinosa, E., Fócil-Monterrubio, R. L. & Díaz-Ramírez, I. J. (2015). Biological Activity Assessment in Mexican Tropical Soils with Different Hydrocarbon Contamination Histories. *Water, Air and Soil Pollution*, 226(353), 1-15.
- Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G. & Bastida-Codina, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Revista de Ciencias Ambientales*, 56(1), 178-208. <https://dx.doi.org/10.15359/rca.56/1.9>
- Rodríguez Lara, J.W., Cervantes Ortiz, F., Arámbula Villa, G., Mariscal Amaro, L.A., Aguirre Mancilla, C.L. & Andrio Enríquez, E. (2022). Lirio acuático (*Eichhornia crassipes*): una revisión. *Agronomía Mesoamericana*, 33(1), 1-12.
- Romaniuk, R., Giuffré, L. & Constantini, A. (2018). Suelos contaminados con hidrocarburos : un caso de estudio. En L. Brutti, M. Beltrán, I. García de Salamone (Eds.) *Biorremediación de los recursos naturales* (pp. 316-325). Instituto de suelos. [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/135071/CONICET\\_Digital\\_Nro.47a8f79f-2c62-4398-9cc3-18e858fdc03e\\_H.pdf?sequence=11&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/135071/CONICET_Digital_Nro.47a8f79f-2c62-4398-9cc3-18e858fdc03e_H.pdf?sequence=11&isAllowed=y)
- Romer-Kutzner, V., Packard, T. T., Berdalet, E., Roy, S., Gagné, J., & Gómez, M. (2015). Respiration quotient variability: bacterial evidence. *Marine Ecology Progress Series*, 519, 47-59. <https://doi.org/10.3354/meps11062>
- Rosero, J., Vélez, J., Burbano, H., & Ordóñez, H. (2019). Cuantificación de la respiración y biomasa microbiana en Andisoles del sur de Colombia. *Agro Sur*, 47(3), 15–25. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2019.v47n3-03>
- Salazar Carranza, L.A., Hinojoza Guerrero, M.M., Acosta Gaibor, M.P., Escobar Torres, A.F. & Srich Vázquez, A.J. (2020). Caracterización, clasificación y usos de las enzimas lipasas en la producción industria. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 39(4), 1-16.



- Sánchez, M., Ruiz Sánchez, E., Muñoz Rodríguez, D., Chan Cupul, W. & Medina Dzul, K. (2022). Efecto de inoculantes microbianos en los compuestos bioactivos y actividad antioxidante del chile xcat'ik (*Capsicum annum* L.). *Biotechnica. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 24(3), 123-131.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2000). Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000. Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. México. Diario Oficial de la Federación.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2010). *Programa Nacional de Remediación de Sitios Contaminados* [Archivo PDF].
- Tran, H., Lin, C., Bui, X., Ngo, H., Cheruiyot, N. K., Hoang, H., & Vu, C. T. (2021). Aerobic composting remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil. Current and future perspectives. *Science of The Total Environment*, 753, 142250. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142250>
- Tilley, E., Ulrich, L., Lüthi, C., Reymond, P., Schertenleib, R., & Zurbrügg, C. (2018). Compendium of Sanitation Systems and Technologies. *The Swiss Agency for Development and Cooperation (SDC)*, 132-133.
- Tovar Jiménez, X., Favela Torres, E., Volke Sepúlveda, T. L., Escalante Espinosa, E., Díaz Ramírez, I. J., Córdova López, J. A., & Téllez Jurado, A. (2019). Influence of the geographical area and morphological part of the water hyacinth on its chemical composition. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 11(1), 39–52.
- Tovar Jiménez, X., Téllez Jurado, A., López Medina, E. N., Favela Torres, E., & Hernández Aldana, I. (2017). Obtención de extractos celulolíticos a partir de *Pleurotus ostreatus* empleando como sustrato lirio acuático. *Revista de Ingeniería Biomédica y Biotecnología*, 1(1), 26-34.
- Vargas Guarín, L.D. (2020). *Impactos ambientales de la producción petrolera en Colombia y su relación con la innovación tecnológica en los últimos quince años*. [Monografía de Licenciatura, Fundación Universidad de América] <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7843/1/463974-2020-I-GA.pdf>

- Velázquez Arias, J.A. (2017). Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 8(1), 151-167.
- Vilchez Fernández, O.E. & Ulloa Carcasés, M. (2015). Evaluación del impacto ambiental por presencia de hidrocarburos en el fondo. Los Clavelitos. *Minería y Geología*, 31(3), 91-108.
- Villamagna, A. M., & Murphy, B. R. (2010). Ecological and socio-economic impacts of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): a review. *Freshwater Biology*, 55:2, 282-289. doi: 10.1111/j.1365-2427.2009.02294.x
- Vizúete García, R.A., Pascual Barrera, A.E., Taco Taco, C.W. & Morales Padilla, M.M. (2020). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a base de bacterias utilizadas como bioproductos. *Revista Lasallista de Investigación*, 17(1), 177-187.
- Wrenn, B. A., & Venosa, A. C. (1996). Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable-number procedure. *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 252-258.
- Zenteno Rojas, A., Rincón Molina, C.I., Martínez Romero, E., Manzano Gómez, L.A., Rincón Molina, F.A., Ruíz Valdiviezo, V. M., Cruz Rodríguez, R.I., Villalobos Maldonado, J.J. & Rincón Rosales, R. (2022). Biostimulation and Bioaugmentation of Soils Contaminated with Decachlorobiphenyl (PCB-209) Using Native Bacterial Strains Individually and in Consortia. *Sustainability*, 14, 1-14.

## 8. ANEXOS

### 8.1. Productos derivados del proyecto



# 11<sup>o</sup> Encuentro de Jóvenes Investigadores en evaluación y tecnología ambiental

## 6<sup>o</sup> Simposium de orientación y vinculación del ingeniero ambiental con su campo profesional



El Cuerpo Académico de Evaluación y Tecnología Ambiental

Otorgan la presente

## CONSTANCIA

Janeth M. Contreras Capetillo, Susana Torres Andrade  
Héctor J. Megía Vera, Jesús M. Carrera Velueta  
Erika Escalante Espinosa, Ildelfonso J. Díaz Ramírez

Por su participación como Ponente en el 11<sup>o</sup> Encuentro de Jóvenes Investigadores en Evaluación y Tecnología Ambiental, con la conferencia "Evaluación de la eficiencia de un inoculante bacteriano para la biorremediación de un suelo contaminado con hidrocarburos", celebrado los días 23 y 24 de noviembre de 2023 en la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Tabasco, México.

Villahermosa, Tabasco, México, 24 de noviembre de 2023

Dr. Arturo Garrido Mora  
Director de la DACBIOL-UJAT

Dr. Ildelfonso J. Díaz Ramírez  
Responsable del CAETA



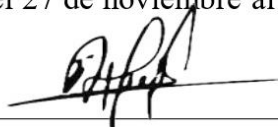


OTORGA LA PRESENTE

# CONSTANCIA

*Alfonso Jesús Díaz Ramírez, Susana Isabel Torres Andrade, Janeth Monserrat Contreras Capetillo, Héctor J Mejía Vera, Jesús Manuel Carrera Velueta y Erika Escalante Espinosa*

Por haber presentado el cartel: “Actividad de la enzima lipasa como indicador de la eficiencia de la bioaumentación de suelos contaminados con diferentes concentraciones de hidrocarburos”, en la categoría **Experimental a nivel superior**, dentro de las actividades del **4º Congreso Internacional de Química Sustentabilidad Energética y Ambiental “Dr. Mario Molina Henríquez”**, modalidad virtual, llevado a cabo del 27 de noviembre al 01 de diciembre de 2023.



**Dra. Hermicenda Pérez Vidal**  
Directora de la División Académica  
de Ciencias Básicas



DIVISIÓN ACADÉMICA DE  
CIENCIAS BÁSICAS



**Dr. Abraham Gómez Rivera**  
Presidente del Comité Organizador

Cunduacán, Tabasco 01 de diciembre de 2023

## 8.2. Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional

<b>Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional</b>	
<b>Título de la Tesis:</b>	Evaluación del desempeño de un inoculante bacteriano a diferentes concentraciones de hidrocarburos durante la biorremediación de suelo por co-compostaje con lirio acuático ( <i>Eichhornia crassipes</i> )
<b>Autor(a) o autores(ras) de la Tesis:</b>	Susana Isabel Torres Andrade, Janeth Monserrat Contreras Capetillo, Ildefonso Jesús Díaz Ramírez, Erika Escalante Espinosa.
<b>ORCID:</b>	<a href="https://orcid.org/0009-0004-4137-6087">https://orcid.org/0009-0004-4137-6087</a> <a href="https://orcid.org/0009-0001-0406-3864">https://orcid.org/0009-0001-0406-3864</a>
<b>Resumen de la Tesis:</b>	En el presente trabajo se evaluó el desempeño de un inoculante bacteriano inmovilizado durante su aplicación en un sistema de biorremediación de suelo artificialmente contaminado por co-compostaje en presencia de lirio acuático a diferentes concentraciones de hidrocarburos (15 000, 25 000 y 35 000 mg kg <sup>-1</sup> ). Se analizaron diferentes parámetros como el contenido de hidrocarburos residuales por el método de Soxhlet (EPA 3540); la actividad de la enzima lipasa por el método espectrofotométrico (l=405 nm, Margesin et al. 2005); el número de microorganismos heterotróficos totales y degradadores de hexadecano; el consumo de O <sub>2</sub> y la producción de CO <sub>2</sub> durante el cultivo para cada uno de los tratamientos mediante un sistema semiautomatizado de respirometría y se calcularon parámetros cinéticos vinculados a la biodegradación y el coeficiente

	<p>respiratorio durante el ensayo. El monitoreo se llevó a cabo durante 18 a 25 días para los diferentes parámetros. Los resultados mostraron que la actividad lipasa acumulada durante el ensayo se incrementó de forma lineal con respecto a la concentración, con máximos de 451.05UE y 852.24UE a los 15 días de cultivo (15 y 25 g kg<sup>-1</sup>). De igual manera, para microorganismos degradadores, se obtuvieron incrementos en cada tratamiento en el día 15 con un 4% para SC 15 – LI, 20% para SC 25 – LI con el valor más alto de incremento para este tiempo, y finalmente, un 15% para SC 35-LI. La eficiencia de biodegradación del inoculante presentó una correlación positiva con respecto a la concentración siendo de entre 28 a 37% a los 20 días de cultivo. La tasa de mineralización (mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) debida a la actividad microbiana presentó el valor más alto para el suelo contaminado a 35 000 mg kg<sup>-1</sup> con 206.4 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, lo cual coincide con la tasa de consumo de O<sub>2</sub> más alta con un valor de 818.5 mg CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> para ese mismo tratamiento. La presencia del inoculante permitió alcanzar tasas de consumo máximas de 1,200 a 2,400 mg de hidrocarburos kg<sup>-1</sup> de suelo d<sup>-1</sup>. La cinética de consumo de hidrocarburos se ajustó a un modelo de primer orden, a partir del cual se obtuvieron valores de tiempo de vida media de 31 a 35 días para el intervalo de concentraciones probadas.</p> <p>Con base en los valores positivos obtenidos en los diferentes parámetros (altos niveles de actividad lipasa, biodegradación y mineralización), el inoculante</p>
--	--

	<p>bacteriano resultó eficiente en el intervalo de las concentraciones experimentales probadas. Lo cual permite inferir que su aplicación es una estrategia viable para la remediación biológica en suelos altamente contaminados por hidrocarburos totales de petróleo.</p>
<p><b>Palabras claves de la Tesis:</b></p>	<p>Inoculante microbiano, respiración del suelo, actividad lipasa.</p>
<p><b>Referencias citadas:</b></p>	<p>Chang, W., &amp; Ghoshal, S. (2014). Respiratory quotients as a useful indicator of the enhancement of petroleum hydrocarbon biodegradation in field-aged contaminated soils in cold climates. <i>Cold Regions Science and Technology</i>. <a href="https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2014.06.010">https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2014.06.010</a></p> <p>Ordoñez Burbano, D.E., Abella Medina, C.A., Echeverry Tamayo, A., Paz Lasprilla, L.M. &amp; Benítez Campo, N. (2018). Biodegradación de hidrocarburos alifáticos saturados por microorganismos aislados de suelo contaminado con derivados del petróleo. <i>Revista de Ciencias</i>, 22(2), 33-44.</p> <p>Riveroll-Larios, J., Escalante-Espinosa, E., Fócil-Monterrubio, R. L. &amp; Díaz-Ramírez, I. J. (2015). Biological Activity Assessment in Mexican Tropical Soils with Different Hydrocarbon Contamination Histories. <i>Water, Air and Soil Pollution</i>, 226(353), 1-15.</p> <p>Rodríguez Lara, J.W., Cervantes Ortíz, F., Arámbula Villa, G., Mariscal Amaro, L.A., Aguirre Mancilla, C.L. &amp; Andrio Enríquez, E. (2022). Lirio acuático</p>

	<p>(<i>Eichhornia crassipes</i>): una revisión. <i>Agronomía Mesoamericana</i>, 33(1), 1-12</p> <p>Sánchez, M., Ruiz Sánchez, E., Muñoz Rodríguez, D., Chan Cupul, W. &amp; Medina Dzul, K. (2022). Efecto de inoculantes microbianos en los compuestos bioactivos y actividad antioxidante del chile xcat'ik (<i>Capsicum annum</i> L.). <i>Biotechnica. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud</i>, 24(3), 123-131.</p> <p>Tovar Jiménez, X., Favela Torres, E., Volke Sepúlveda, T. L., Escalante Espinosa, E., Díaz Ramírez, I. J., Córdova López, J. A., &amp; Téllez Jurado, A. (2019). Influence of the geographical area and morphological part of the water hyacinth on its chemical composition. <i>Ingeniería Agrícola y Biosistemas</i>, 11(1), 39–52.</p>
--	--