



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
División Académica de Ciencias Biológicas



**“CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DEGRADORAS DE
POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD”**

Trabajo recepcional, en la modalidad de:

Tesis

Para obtener el título en:

Licenciatura en Biología

Presenta:

Jenestey Alexi García García

Directores:

Mca. Lucero Vázquez Cruz
Mca. Rosa Martha Padrón López

Villahermosa, Tabasco, México

Junio, 2019

Caracterización De Bacterias Degradadoras De Polietileno De Baja Densidad

Por Jenestey Alexi García García

CANTIDAD DE PALABRAS 11369

HORA DE ENTREGA

01-JUL-2025 08:51A. M.

NÚMERO DE
IDENTIFICACIÓN DEL
TRABAJO

117015288

Caracterización De Bacterias Degradadoras De Polietileno De Baja Densidad

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	ri.ujat.mx Internet	1095 palabras — 11%
2	docplayer.es Internet	155 palabras — 2%
3	bdigital.dgse.uaa.mx:8080 Internet	61 palabras — 1%
4	pure.ups.edu.ec Internet	46 palabras — < 1%
5	vdocuments.mx Internet	40 palabras — < 1%
6	www.buenastareas.com Internet	35 palabras — < 1%
7	aciplast.org Internet	33 palabras — < 1%
8	repositorio.unbosque.edu.co Internet	27 palabras — < 1%
9	www.scribd.com Internet	27 palabras — < 1%
10	www.zaragoza.unam.mx Internet	26 palabras — < 1%

11	repositorio.ucv.edu.pe Internet	24 palabras — < 1 %
12	www-nds.iaea.org Internet	22 palabras — < 1 %
13	www.coursehero.com Internet	21 palabras — < 1 %
14	repositorio.espe.edu.ec:8080 Internet	20 palabras — < 1 %
15	www2.uesb.br Internet	20 palabras — < 1 %
16	static1.squarespace.com Internet	19 palabras — < 1 %
17	upc.aws.openrepository.com Internet	16 palabras — < 1 %
18	www.jazindia.com Internet	16 palabras — < 1 %
19	cybertesis.unmsm.edu.pe Internet	15 palabras — < 1 %

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 15 PALABRAS



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

JUNIO 21 DE 2019

C. JENESTEY ALEXI GARCÍA GARCÍA
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA
PRESENTE

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: **"CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD"**, asesorado por la MCA. Lucero Vázquez Cruz y MCA. Rosa Mirtha Padrón López, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado el Dr. Raymundo Hernández Martínez, Dra. Sugely Martínez López, MCA. Rosa Mirtha Padrón López, M. en C. Marcela Alejandra Cid Martínez y M. en C. Ma. Guadalupe Rivas Acuña.

ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE

DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

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

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis denominado: **"CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE POLIETILENO DE BAJA DENSIDAD"**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 21 de Junio de 2019

AUTORIZO



JENESTEY ALEXI GARCÍA GARCÍA

El sacrificio de la ciencia

de Marie Curie

«¡Ah, cómo la juventud del estudiante transcurre amargamente,
mientras que a su alrededor, con eterna pasión lozana,
otros jóvenes buscan ávidamente los fáciles placeres!

¡Y no obstante, en su soledad

vive, oscura y feliz,

pues en su celda halla la fuerza

que hace inmenso el corazón!

Mas el tiempo bendito se esfuma,

pues debe abandonar el país de la ciencia

para luchar por su pan

en los grises caminos de la vida.

...Y muy a menudo, el espíritu fatigado

vuelve bajo los techos

de este rincón siempre amado por su corazón,

en donde albergaba la labor silenciosa

y en donde quedó un mundo de añoranzas».

A *Dios*.

Porque el señor tu Dios está en medio de ti como guerrero victorioso. Se deleitará en ti con gozo, te renovará con su amor, se alegrará por ti con cantos. Sofonías 3:17

A mis *amorosos padres* que siempre me apoyaron.

• A mi *familia unida*, que siempre estuvieron ahí para mí.

J.A.G.

Agradecimientos

Terminado este proyecto y un escalón más en mi vida, quiero expresar mi eterno agradecimiento a mis buenos padres, quienes bondadosos me apoyaron siempre con su afecto, cariño y paciencia en los momentos más difíciles de este camino. Dándome siempre las herramientas necesarias para culminar mis proyectos personales. A quienes siempre confiaron en mí, ¡Mis padres!

A mis abuelos que me ayudaron siempre en las colectas.

A mis buenos maestros, quienes fueron mi guía en la carrera y me dotaron del conocimiento necesario en mi búsqueda del saber, a todos y cada uno de los docentes con quienes tuve el grato honor de aprender en sus clases.

A mis gratos compañeros de universidad (saben quiénes son), con quienes pasé momentos inolvidables, quienes siempre fueron un apoyo en mi estancia universitaria y nunca me fallaron.

Al personal del laboratorio de microbiología de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Biorremediación	4
2.1.2 Tipos de biorremediación.....	4
2.1.3 Algunos microorganismos utilizados en la biorremediación.....	5
2.2 Características de los plásticos	6
2.2.2 Posicionamiento del Polietileno de baja densidad en la familia de los plásticos.....	10
3. ANTECEDENTES.....	11
4. JUSTIFICACIÓN	15
5. OBJETIVOS	17
5.1 Objetivo General	17
5.2 Objetivos Particulares	17
6. HIPÓTESIS.....	17
7. MATERIALES Y MÉTODOS	18
7.1 Área de estudio.....	18
7.2 Fase 1.....	19
7.2.1 Colecta de las muestras.....	19
7.2.2 Procesamiento de muestras.....	20
7.2.3 Fase de aislamiento	21
7.3 Fase 2.....	22
7.3.1 Diseño experimental.....	22
7.3.2 Fase de adaptación.....	23
7.4 Fase 3.....	24
7.4.1 Fase de degradación.....	24
7.5 Prueba estadística	25

8. RESULTADOS	25
8.1 Caracterización e identificación de cepas bacterianas	25
8.2 Índice de biodegradación (IB)	27
8.3 Prueba estadística	28
9. DISCUSIÓN.....	29
10. CONCLUSIONES.....	34
11. ANEXOS.....	36
12. LITERATURA CITADA	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Procesos generales de la biodegradación..	5
Figura 2. Familia de los plásticos.	10
Figura 3. Área de estudio.	18
Figura 4. Relleno sanitario regional Teapa-Tacotalpa.	19
Figura 5. Colecta de las muestras, con un nucleador a profundidades de 10, 20 y 30 cm.	20
Figura 6. Primera fase de adaptación en medio de sales minerales con bolsas de plástico del sitio de muestreo.	21
Figura 7. Aislamiento utilizando la técnica de 4 estrías.	22
Figura 8. Fase de adaptación en medio de sales minerales con 300 mg de PEBD.	23
Figura 9. Diseño experimental para la degradación de PEBD, utilizando bacterias aisladas en suelo de un relleno fitosanitario, suspendidas en MSM; PEPD (polietileno de baja densidad).	24
Figura 10. Valores obtenidos de los índices de adaptabilidad y biodegradación de cada tratamiento, los datos corresponden a valores promedios por duplicados realizados por cada tratamiento. <i>P. aeruginosa</i> (Pa); <i>A. hydrophila</i> (Ah); <i>B. cepacia</i> (Bc) y <i>R. radiobacter</i> (Rr).	28
Figura 11. Distribución de los valores en IB (Índice de biodegradación), de las diferentes cepas estudiadas (Gráfica de cuartiles). F y G representan diferencias estadísticas significativas.	29

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies identificadas a partir de muestras de suelo de un relleno sanitario en Teapa, Tabasco; <i>P. aeruginosa</i> (Pa); <i>A. hydrophila</i> (Ah); <i>B. cepacia</i> (Bc) y <i>R. radiobacter</i> (Rr).	26
Tabla 2. Clasificación taxonómica de las especies aisladas.	26



1. INTRODUCCIÓN

La biorremediación es un proceso que permite degradar contaminantes, utilizando microorganismos, estos, son muy diversos. Lo que quiere decir que existe una extensa gama que pudieran tener la capacidad de degradar compuestos orgánicos e inorgánicos. Esta capacidad de degradar o transformar los componentes dependerá de las capacidades catabólicas de dichos organismos, por lo tanto, a su vez también dependerá del aprovechamiento de estos contaminantes como fuente de energía (Volke y Velasco, 2002).

El polietileno es conocido por ser persistente y el efecto de degradación es poco eficiente, su importancia industrial lleva a la necesidad de entender este proceso de degradación y el deterioro de estos desechos plásticos. Su acumulamiento en el medio ambiente se constituye por sí solo en una preocupación (Retrespo, Bassi y Thompson, 2014).

Los productos elaborados con polietileno exhiben dos grandes inconvenientes, en primer lugar, el deterioro cuando se utilizan y su posterior contaminación después de su uso. En la última circunstancia por su característica resistencia, en muchos casos no son degradados por los microorganismos del suelo, permaneciendo así en el medio ambiente por largos periodos, a esto se agrega la formación de compuestos químicos persistentes en el ambiente como las dioxinas, estas toxinas están asociadas al cáncer, daños en el sistema reproductor y trastornos en el desarrollo de los seres vivos (Méndez, Vergaray, Béjar y Cárdenas, 2007). Se considera al depósito plástico no solo a cielo abierto, sino también en los rellenos sanitarios, un problema de contaminación medioambiental tanto para especies cercanas o que lo habitan, como para los asentamientos humanos.

La producción de polímeros en México ha aumentado relativamente en los últimos años (4.8 % de 2009 a 2016), dada su fácil obtención y los bajos costos que tienen en comparación con materiales de origen natural, así como la diversidad de usos. De aquí surge la necesidad de estudiar la degradación de polímeros, ya que se necesita reducir la cantidad de desechos que se generan por el uso de los



materiales poliméricos y su poca compatibilidad con el ambiente (Frías, Ize y Gavilán, 2003 y Asociación Nacional del Plástico A.C [ANIPAC], 2016).

Se han reportado trabajos sobre degradación biológica de plásticos y se considera que esta alternativa es importante desde el punto de vista de la salud humana, del ambiente y del factor económico, además es posible utilizar los subproductos como fuente de energía (Méndez, et al., 2007).

La biodegradación de polímeros implica amplias y diversas etapas, además dicho proceso puede detenerse en cualquiera de ellas. Se puede presentar generalmente en tres etapas, siendo estas la colonización, fragmentación y posteriormente la asimilación.

La colonización de las biopelículas en el polímero es la fase inicial de todo el proceso y se ve limitada por las características del polietileno, al ser una molécula con gran peso molecular y con una capacidad hidrofóbica, al contrario de la mayoría de los microorganismos que poseen una característica hidrofílica, es colonizada inicialmente en gran parte por cepas que presentan superficies hidrófobas (Restrepo, et al., 2014).

La fragmentación del polímero es la segunda fase e inicia mediante la degradación abiótica o la oxidación, mayormente causada por el medioambiente (luz, condiciones del entorno, pH, salinidad, disponibilidad de oxígeno, estrés físico, humedad, temperatura, entre otros.) lo que facilita el ataque microbiano (Albertson, 1980 citado por Acuña, 2017). La fragmentación se lleva a cabo conjuntamente por factores bióticos y abióticos; ambos procesos son muy importantes ya que permitirá el paso de las moléculas resultantes por la membrana celular para su futura asimilación y porque los compuestos enzimáticos producidos por los microorganismos solo son capaces de atacar a moléculas con cierto peso molecular específico (Restrepo, et al., 2014). En la acción biótica, el microorganismo se verá beneficiado cuando exista un grupo carbonilo colindante a un átomo de carbono secundario o terciario y tomará un átomo de carbono para transformarlo en un grupo carbonilo, que al ser inestable inducirá la ruptura de la cadena. Al formar este grupo funcional, los microorganismos seguirán atacando mediante la producción de



enzimas que se adherirán a la superficie del polímero y por acciones hidrolíticas dividirán las moléculas poliméricas, se reducirán las cadenas macromoleculares en fragmentos de bajo peso molecular que son fácilmente digeridos por los microorganismos (Arcienega, 2008).

Finalmente, dichas moléculas pueden ser reconocidas por los receptores de las células microbianas y pasan por la membrana celular, otras quedan en el medio extracelular donde pueden ser modificadas. Una vez dentro de la célula ocurre el proceso de asimilación, en el citoplasma las moléculas son añadidas al metabolismo del microorganismo donde se produce energía, nueva biomasa, vesículas de almacenamiento y también numerosos metabolitos primarios y secundarios. En ese mismo instante se lleva a cabo la mineralización, en la cual otros metabolitos simples y complejos son excretados alcanzando el entorno extracelular. Es mediante este proceso en el que moléculas simples (CO_2 , N_2 , CH_4 , H_2O y diferentes sales de metabolitos intracelulares) totalmente oxidadas son liberadas al medio ambiente (Lucas, et al., 2008).

Por lo anterior y conociendo que, en Teapa, Tabasco existe un relleno sanitario en el que se puede observar una gran cantidad de residuos que en su mayoría son elaborados con polietileno de baja densidad (PEBD), este proyecto pretende caracterizar aquellas bacterias degradadoras de los residuos obtenidos de este material en el relleno sanitario municipal.



2. MARCO TEÓRICO

2.1 Biorremediación

La biorremediación se constituye hoy en día una alternativa practica y sustentable, según Van Deuren y col., (1997) la biorremediación es un término utilizado para definir la gran variedad de sistemas que, empleando organismos vivos (de las cuales pueden ser plantas, hongos, bacterias, entre otros., pero no necesariamente se limita a ellos), degradan, transforman o remueven compuestos orgánicos que pueden ser tóxicos a productos metabólicos inofensivos o menos tóxicos. Esta estrategia biológica dependerá de las acciones catabólicas de cada organismo, y por lo tanto de su habilidad para utilizar los contaminantes como fuente de alimento y energía (citado en Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático [INECC], 2007).

2.1.2 Tipos de biorremediación

La biorremediación puede clasificarse según el organismo con el que se efectúa la biorremediación, estos pueden ser:

- 1.- Fitorremediación: Es la practica en la que utilizando vegetales se contiene, remueve o neutralizan compuestos xenobióticos u orgánicos (Marivela, Guerrero, López, Sánchez y Toledo, 2002).
- 2.- Biorremediación animal: Animales que se desarrollan en ambientes hostiles con alta toxicidad, pueden actuar como agentes descontaminantes ya que poseen en su interior microorganismos capaces de retener metales pesados (Atlas y Unterman, 1999 citado en Duran y Sanguino 2014).
- 3.- Biorremediación microbiana: Se utilizan microorganismos que transforman compuestos tóxicos a otros con menor riesgo ambiental (Figura 1), aunque las bacterias son las más utilizadas también se emplean otros microorganismos tales como los hongos, algas, cianobacterias y actinomicetos (Torres, 2003).

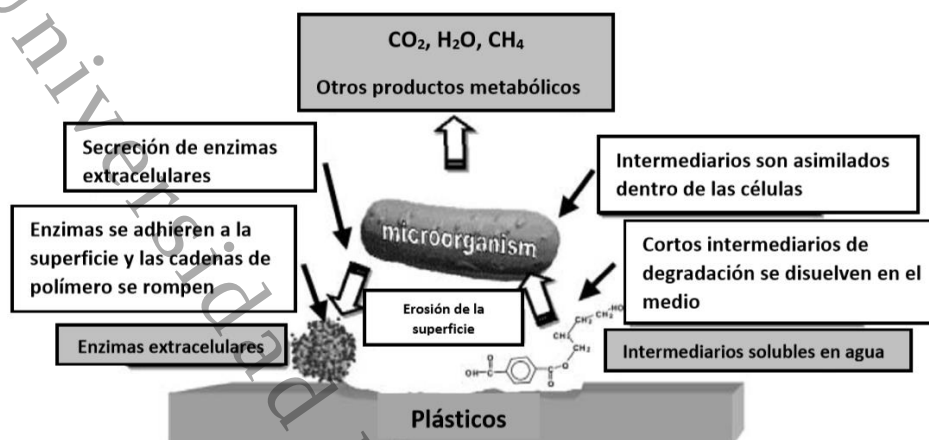


Figura 1. Procesos generales de la biodegradación. (Yepes, 2014).

2.1.3 Algunos microorganismos utilizados en la biorremediación

Los microorganismos reportados y caracterizados, utilizados en la biorremediación de los compuestos de petróleo, han sido estudiados numerosas veces y entre los géneros confirmados se encuentran *Acinetobacter*, *Alcanivorax*, *Alkanindiges*, *Arthrobacter*, *Marinobacter*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* y *Rhodococcus*. Recientemente se han reportado numerosas bacterias capaces de degradar estos compuestos como *Desulfosporosinus* sp. encontrada en numerosos campos petroleros. Incluso los microorganismos que se encuentran en muestras contaminadas por petróleo, si se presentan dominantes en cada muestra, dejan ver su potencial en la biodegradación de este componente (Sun, et al., 2015).

Otros de los contaminantes más comunes son los pesticidas en especial los organofosforados. La biodegradación es una alternativa que ha probado ser rentable y amigable con el ambiente. En este tipo de compuesto se han aislados microorganismos capaces de mineralizar este tipo de pesticidas, se reportan bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Ochrobactrum anthropi*, *Hyphomicrobium* sp., *Agrobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Flavobacterium* sp., *Micrococcus* sp., y *Plesiomonas* sp. De igual forma hongos como *Penicillium oxalicum*, *Fusarium* sp., *Aspergillus sydowii* y *Saccharomyces* sp (Jian, et al., 2019). De igual forma uno de los contaminantes más persistentes son los metales pesados. La biorremediación de metales tóxicos se lleva a cabo mediante la interacción de microorganismos y diferentes iones metálicos tóxicos. Los microorganismos no



pueden eliminar los iones metálicos, sino que, interaccionan de manera tal que disminuyen su toxicidad. Existen diversos microorganismos aislados y caracterizados que lograron un papel importante en la eliminación y desintoxicación de varios iones metálicos, uno de ellos el arsenico, se conocen bacterias como *Bacillus arsenooxydans*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas arsenitoxidans*, *Microbacterium lacticum*, *M. oxydans*, *Agrobacterium tumefaciens*, *P. stutzeri*, *Aeromonas* sp., *Agrobacterium* sp., *Comamonas* sp., *Enterobacter* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp. y *P. lubricans*; géneros de hongos como *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Neocosmospora*, *Sordria*, *Rhizopus*, *Penicillium* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. El gran potencial y viabilidad de la biorremediación mediante la utilización de microorganismos hacen que estos sean una base fundamental para la eliminación de los metales pesados como el arsénico (Sher & Rehman, 2019).

2.2 Características de los plásticos

El término "plástico" puede referirse a la amplia escala de materiales sintéticos o semisintéticos utilizados en una gran cantidad de aplicaciones. Esta palabra proviene del vocablo griego "plastikos" que significa, que se puede moldear. Haciendo referencia a su maleabilidad en el proceso de fabricación, lo que permite fundirlo, prensarlo o extrusionarlo, para conseguir formas muy variadas como láminas, fibras, placas, tubos, botellas, cajas, entre otros. (PlasticsEurope, 2018).

Según Madrigal y Shastri (2011), PlasticsEurope (2018) y ANIPAC (2019) los plásticos según su comportamiento al calor, pueden ser termoplásticos, termoestables o elastómeros.

- 🌈 Termoplásticos: Son polímeros que se funden y se moldean mediante múltiples procesos, estos se ablandan con el calor y se endurecen al enfriarse.



Los principales son:

1. Polietileno (PE).
2. Polipropileno (PP).
3. Poliestireno (PS).
4. Cloruro de polivinilo (PVC).
5. ABS (Acrilo Nitrilo/Butadieno/Estireno).
6. Estireno Acrilonitrilo (SAN).
7. Acrílico (polimetilmetacrilato, PMMA).
8. Policarbonato (PC).
9. Nylon (poliamida, PA).
10. Polietileno Tereftalato (PET).
11. Poliéster (Polibutileno Tereftalato, PBT or PBTP).
12. Acetal (polioximetileno, POM).
13. PPO, PPE (Óxido Polifenileno Modificado y Éter Polifenileno).
14. Polisulfone, Polieterimide, y Polietersulfone (PSO, PEI, PES).
15. Poliuretano Termoplástico (TPU).

Propiedades de los termoplásticos: Poseen una estructura molecular simple, con macromoléculas independientes químicamente. Si se calientan se derriten, posteriormente se moldean, se forman, se fusionan y se solidifican al bajar la temperatura. Estos ciclos pueden repetirse muchas veces por lo que se pueden procesar y reciclar en varias ocasiones.

- Termoestables: Polímeros sintéticos que son tratados mediante varios procesos que inducen cambios en su composición, creando una estructura química tridimensional. Estos plásticos se endurecen mediante el calor y a diferencia de los termoplásticos, estos no son regenerables mediante el calor. Las baquelitas son probablemente los plásticos termoestables más conocidos.



En este grupo se encuentran las:

1. Resina epoxi.
2. Poliésteres no saturados.
3. Poliuretanos.
4. Silicones.
5. Resinas Fenólicas, (Fenol-Formaldehído).
6. Resinas Urea Folmaldehído.
7. Resinas de Melanina o Melamínicas, (Melaminas-Formaldehído).

Propiedades de los termoestables: Estos polímeros conservan su fuerza y forma cuando se aplica calor, por lo que son muy resistentes, ideales para producir compuestos permanentes y grandes formas sólidas. Cada termoestable posee diversas propiedades únicas. Las resinas epoxi son elásticas, tienen una resistencia química extraordinaria y son fáciles de endurecer relativamente. A diferencia, los fenoles son quebradizos y duros.

- ✚ Elastómeros: Es un compuesto químico que posee la peculiar característica de ser muy elástico, retoma su forma incluso después de ser deformado. Por ello es el polímero básico de otros materiales como la goma y productos adhesivos.

Siendo los principales:

1. Elastómeros de butadieno-estireno.
2. Neopreno.
3. Elastómeros de Polisulfuro y Siliconas.



4. Hialón.
5. Elastómeros de Poliuretano.
6. Fluorelastómeros.
7. Poliisoprenos.
8. Polibutadieno.

Propiedades de los Elastómeros: Posee miles de monómeros, formando una enorme cadena muy flexible y entrelazadas de manera desordenada, lo que le confiere su gran elasticidad. Cuando este polímero es estirado, sus moléculas se arreglan de tal manera que toman un aspecto cristalino, sin embargo, al soltarlo rápidamente vuelve a su forma original desarreglada.



2.2.2 Posicionamiento del Polietileno de baja densidad en la familia de los plásticos

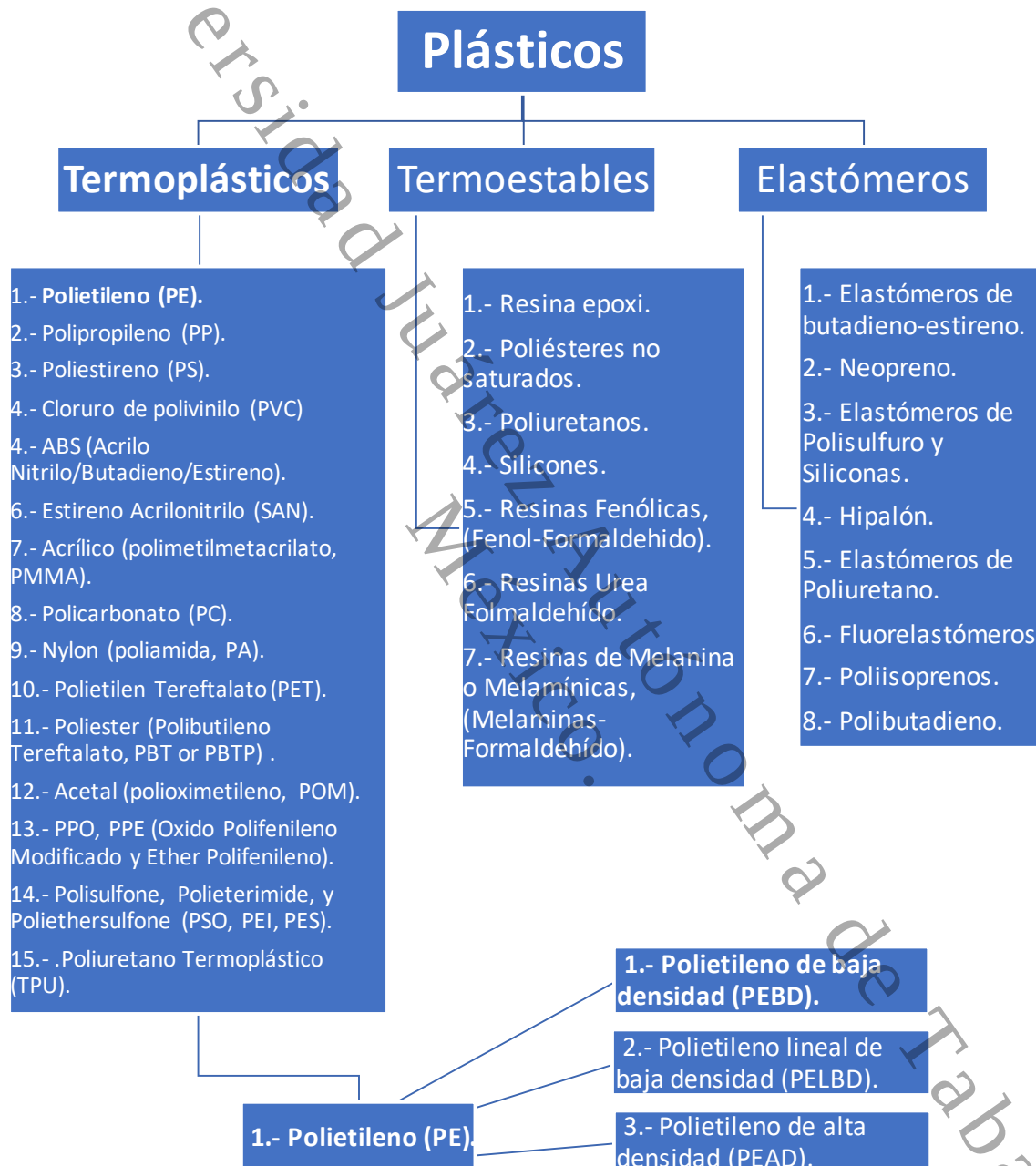


Figura 2. Familia de los plásticos (Madrigal y Shastri, 2011).



3. ANTECEDENTES

En un estudio realizado en la ciudad de Lima, Perú se llevó a cabo una investigación para la búsqueda de microorganismos con acción biodegradadora sobre el PEBD, para ello tomaron material plástico con signos de deterioro y se examinó la biodegradabilidad en condiciones controladas, la medición de dicha acción se realizó cuantitativamente midiendo el porcentaje de peso perdido en un periodo de incubación de 2 meses. Se identificó un consorcio microbiano, el cual obtuvo una remoción del 5.4 % del peso total de las perlas de polietileno (empleadas como única fuente de carbono), del consorcio conformado solo de bacterias (pH 7.0) y un 4.8 % obtenido del consorcio de levaduras y hongos (pH 5.5). Se aislaron seis cepas de las cuales las bacterias obtenidas fueron dos especies de *Pseudomonas* sp., y entre hongos y levaduras se obtuvieron *Penicillium* sp., *Rhodotorula* sp., *Hyalodendron* sp. y una especie de levadura no identificada (Uribe, Giraldo, Gutiérrez y Merino, 2010).

En un segundo estudio se buscó aislar un consorcio microbiano capaz de degradar PEBD, para ello se recolectaron muestras del sitio de disposición final de residuos sólidos urbanos conocido como "Bordo Poniente" de la ciudad de México. Para la pre obtención de cepas se utilizó medio de sales minerales (MSM) adicionados con perlas de PEBD como única fuente de carbono. Se realizó un ensayo para degradar tres diferentes compuestos (polietileno, papel y madera) en cultivo estático y en agitación constante, se registró peso inicial y peso final para determinar el porcentaje de biodegradación. En los resultados se obtuvieron una mayor biodegradación de PEBD en cultivos de agitación constante, con hasta un 19.32 % en un periodo de 60 días. De los ensayos a pH 5 y 7 el valor más alto se obtuvo en cepas cultivadas a pH 5 favoreciendo el crecimiento de hongos filamentosos, cabe resaltar que las levaduras fueron las más predominantes. La única cepa obtenida de bacterias fue *Pseudomonas* sp., de hongos fueron *Aspergillus fluvus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Gliocladium virens* y *Penicillium* sp. y de levaduras fueron *Rhodotorula* sp., *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizosaccharomyces pombe*. De igual manera, se constató que estos



microorganismos son capaces de biodegradar diferentes compuestos orgánicos y dependiendo de su naturaleza será el tiempo en que el material será degradado, siendo el PEBD el que mayor tiempo se lleva para ser biodegradado (Gutiérrez, 2013).

En otro estudio en suelos de vertederos municipales de Indore, India se aislaron varios microorganismos autóctonos. Para la obtención de cepas, se utilizó 50 ml de solución salina al 0.85 % enriquecido con 0,2 g de polvo de PEBD para identificar únicamente bacterias con potencial biodegradativo. Se obtuvieron poblaciones mixtas y se aislaron cepas puras. Las bacterias aisladas fueron sometidas a ensayos de biodegradación en medio MSM (0.1 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1 % de NaNO_3 , 0.1 % de K_2HPO_4 , 0.1 % de KCl , 0.02 % de MgSO_4 y 0.01 % de extracto de levadura en agua destilada) con láminas de PEBD, por 96 horas, cuando el cultivo alcanzó la fase estacionaria. Para determinar la acción degradadora se estimó el porcentaje de peso perdido del cual la cepa A2 presentó la mayor actividad degradativa con un 17.8 %, seguido del consorcio con un 14.67 %, la cepa A1 con un 5 %, la cepa C con 0.9 % y la cepa B con 0.6 %. Se señala que la acción de enzimas inhibidoras (la competitividad) de diversas especies podría ser la causa de que el consorcio no sea tan efectivo como la participación individual de las cepas. Se identificó genotípicamente una nueva cepa, *Pseudomonas citronellolis*, con una similitud en la Base de datos BLAST del 96 %, como resultado una cepa nueva. El aislamiento fue denominado como *Pseudomonas citronellolis* EMBS027 (Bhatia, Girdhar, Tiwari y Nayariseri, 2014).

En un cuarto estudio se investigaron algunos métodos para aumentar los índices de biodegradación del polietileno a través de medios físicos y biológicos. Se utilizó la bacteria *Bacillus subtilis*, (obtenida de la colección de cultura microbiana, Pune, India), por su idoneidad para utilizar el polietileno como única fuente de carbono y por su capacidad de producir biosurfactantes. Para los medios físicos se utilizaron láminas de PEBD y PEAD (Polietileno de alta densidad) de 2 x 2 cm y se irradiaron con UV por 72 horas y para los medios biológico se utilizó MSM (NaNO_3 (2g), MgSO_4 (0.5g), KCl (0.5g), $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (0.01g), KH_2PO_4 (0.14g), K_2HPO_4 (1.2g),



en matraces con PEBD y PEAD, adicionado con 0.02g de extracto de levadura. Para la obtención de biosurfactantes se inocularon cepas de *B. subtilis* en caldo Nutritivo, se incubó hasta llegar a la fase endógena, se añadió aceite de oliva y se agitaron durante 3 y 7 días para la producción de biosurfactantes. Como resultado el peso de la película de PEBD y PEAD con el pre tratamiento de la UV no cambió significativamente, sin embargo, el tratamiento de las películas de PEBD con *Bacillus subtilis* que contaban con la adición de biosurfactante (surfactina) resultaron ser las más eficientes con un porcentaje de pérdida de peso del 9.26 % en 30 días. Se señala que los biosurfactantes son los responsables de la adhesión de los microorganismos a la superficie del polietileno, por lo que el incremento de estos, aumentó la velocidad de adhesión a la superficie del polietileno y su posterior utilización como fuente de carbono (P. y Mathew, 2015).

Se tiene también conocimiento de otro estudio para mejorar los costos de la degradación de PEBD y PEAD empleando técnicas ecológicas y seguras, así como estrategias rentables, para el cual se empleó un consorcio de bacterias termófilas de recién formulación extraídas de excretas de vaca. Las recolecciones de las muestras se realizaron en 9 lugares con contaminación plástica en la ciudad de Bengaluru, India, las muestras se enriquecieron y mediante el método estándar se diluyeron en placas de MSM (sulfato de amonio ($1,0 \text{ gl}^{-1}$), fosfato di-potásico ($7,0 \text{ gl}^{-1}$), fosfato de potasio ($2,0 \text{ gl}^{-1}$), sulfato de magnesio ($0,1 \text{ gl}^{-1}$) adicionado con polvo de PEBD y PEAD (1.0 gl^{-1}) a 55°C . Se utilizaron solo las cepas que presentaron una mayor biodegradación de PEAD y PEBD. Por lo cual se seleccionó cuatro aislamientos puros para formar once combinaciones de consorcios bacterianos, se utilizó medio MSM en tubos de ensayo con 15 ml con caldo de cultivo MSM, con tiras de PEBD y PEAD de $5 \times 1 \text{ cm}$ y gránulos de 2.5 mm de diámetro, se incubó durante 120 días a 55°C . Se realizaron ensayos en diferentes condiciones de temperatura y pH, considerándose la velocidad de biodegradación mediante la estimación de pérdida de peso. Como resultado se obtuvo una estimación de la biodegradación de las tiras de PEBD en $75 \pm 2 \%$, los gránulos del mismo en $55 \pm 2 \%$, las tiras de PEAD en $60 \pm 3 \%$ y los gránulos del mismo en $43 \pm 3 \%$. Las bacterias



obtenidas fueron *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Bacillus* sp., y *Paenibacillus* sp. (Skariyachan, et al., 2017).

En otro estudio se identificó a *P. aeruginosa* como degradadora de PEBD, a partir de muestras de agua. Se realizaron diferentes tratamientos con diferentes condiciones de incubación (pH y temperatura). La adaptación se realizó en agar Nutritivo y Cetrimida con PEBD, a diferentes concentraciones (20, 40, 60, 80 y 100 % de PEBD triturado). Los tratamientos se realizaron a diferentes temperaturas (20, 25, 30, 35 y 40 °C) y pH (9, 8, 7.5, 7, 6.5, 6 y 5.5), durante 72 h. Los resultados muestran que la especie pudo crecer óptimamente en pH 8 y temperatura de 25 °C. Se menciona que *P. aeruginosa* se constituye en una alternativa viable para la biodegradación de PEBD, demostrando de igual manera que tanto el pH como la temperatura influyen en el crecimiento microbiano y por lo tanto en la degradación de dicho polímero (Gutiérrez, 2018).



4. JUSTIFICACIÓN

El polietileno es el termoplástico más usado a nivel mundial, por sus múltiples aplicaciones ya que, además de ser un plástico barato puede moldearse a cualquier forma. A nivel mundial en 2016 se produjeron 330 Millones de toneladas de plástico, América del norte es el tercer productor de plástico en el mundo, con una producción de 60 Millones de toneladas en el mismo año, lo que representa un 18% de la producción mundial y en México, en 2016 se produjeron 5.396 millones de toneladas de plástico (ANIPAC, 2016). Lo que se convierte en una gran cantidad de residuos que en su mayoría no son reciclados, los cuales van a parar a los vertederos de basura o rellenos sanitarios en el mejor de los casos. Parte de estos residuos son depositados en cuerpos de agua que van a parar a los mares, convirtiéndose así en un gran problema medioambiental.

La gran industria del plástico lleva consigo muchos problemas medioambientales, una de las peores barreras en esta empresa es la persistencia de estos materiales en el ambiente. En este marco, la biodegradación viene a resolver parte de la problemática dada la gran cantidad de desechos plásticos con ayuda de las bacterias, las cuales podrían degradar estos compuestos de una manera amigable con el ambiente.

Las bacterias cumplen con la importante tarea de asimilación de estos desechos plásticos, este es un proceso único en el que se lleva a cabo una verdadera integración de los átomos, producto de la fragmentación del polímero, al interior de estos microorganismos. Esta anexión provee a los microorganismos de energía y elementos (carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, entre otros.) necesario para constituir la estructura de la célula (Yepes, 2014). Dando como resultado moléculas simples que son expulsadas al ambiente tales como dióxido de carbono, dinitrógeno, metano, agua, entre otros, que son fácilmente absorbidos por el ambiente reintegrándolos así al ciclo del carbono.

Existen diversos estudios que apuestan por esta dinámica para combatir los desechos plásticos y se cuenta con una lista de alrededor de 26 especies de microorganismos que son capaces de realizar esta tarea con mucha eficiencia,



aunque no queda dudas que con la gama de tecnología con la que se cuenta hoy basada en un enfoque más detallado de esta dinámica, esta lista de especies aumentará (Restrepo, et al., 2014).

El tema de la biodegradación como una herramienta de la biotecnología, nos abre hoy muchas pautas para combatir el problema de la contaminación de muchos polímeros sintéticos, sin influir de manera significativa en los procesos de integración al medio ambiente.

Estos temas son de mucha relevancia en los tiempos actuales, el implementar nuevas metodologías de biorremediación ayudara a desarrollar técnicas eficaces para terminar con la problemática de estos polímeros, de igual modo podría mejorar las tecnologías con las que ya se cuentan e incluso desarrollar nuevas tecnologías en diferentes ambientes. Este estudio desarrolla una metodología con variantes diferentes en la biodegradación, además de establecer un estudio en donde no se tenían investigaciones y colabora con la búsqueda y ampliación de microorganismos adaptados al PEBD. Es de vital importancia ampliar esta lista con nuevos microorganismos que ayuden con la tarea de degradar este y otros polímeros. Por ello, esta investigación tiene como objetivo aislar e identificar cepas bacterianas, que cumplan eficientemente con la degradación del PEBD, utilizándolo como única fuente de carbono y energía.



5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Caracterizar bacterias capaces de adaptarse y degradar, el polietileno de baja densidad como única fuente de carbono y energía, a partir de cepas aisladas en suelo de un relleno sanitario ubicado en el municipio de Teapa, Tabasco.

5.2 Objetivos Particulares

- ✚ Aislar y adaptar cepas bacterianas con potencial de adaptación al PEBD como única fuente de carbono y energía en medio MSM, a partir de muestras de suelo de un relleno sanitario.
- ✚ Identificar bioquímicamente las cepas capaces de adaptarse al PEBD, a través del sistema de identificación miniaturizado api® 20NE (bioMérieux).
- ✚ Determinar el porcentaje de degradación de las cepas adaptadas al PEBD, en base al peso inicial y final.

6. HIPÓTESIS

En el relleno sanitario del municipio de Teapa, Tabasco se encuentran bacterias capaces de adaptarse al polietileno de baja densidad como única fuente de carbono.



7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Área de estudio

Las muestras se colectaron en el relleno sanitario regional Teapa-Tacotalpa. Ubicado en la ranchería Arcadio Zentella, en la carretera Teapa-Tacotalpa colindando cerca del Instituto Tecnológico Superior de la Región Sierra; con las coordenadas N 17° 32' 17.516" O 92° 52' 32.278". El vertedero se encuentra alejado de la ciudad con condiciones ambientales óptimas para la proliferación bacteriana, por su antigüedad y por su prominente cantidad de residuos plásticos observados (Figura 3 y 4).

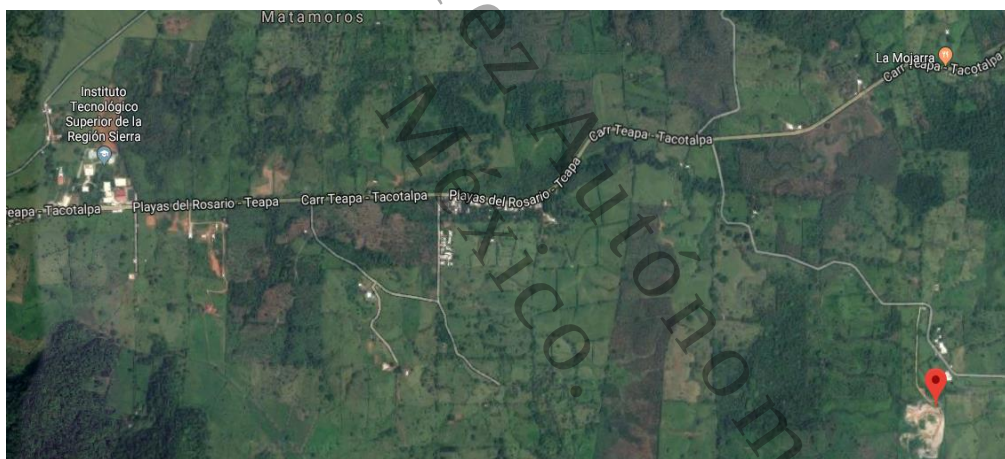


Figura 3. Área de estudio (Google, 2018).



Figura 4. Relleno sanitario regional Teapa-Tacotalpa.

7.2 Fase 1

7.2.1 Colecta de las muestras

El relleno sanitario presenta diversos acumulamientos, compuestos por residuos domésticos, entre ellos: pilas, residuos de comidas, electrodomésticos, pañales, diversos tipos de bolsas plásticas, fibras textiles, entre otros. Estas acumulaciones se encuentran en todo el perímetro del relleno. Por lo cual, se seleccionaron tres puntos de muestreo con base a los siguientes criterios: mayor cantidad de residuos, presencia de residuos plásticos y lixiviados.

Las muestras fueron tomadas con ayuda de un nucleador tubular, a diferentes profundidades superficial de 10, 20 y 30 cm con un aproximado de 300 g por punto de muestreo y se colocaron en una bolsa plástica de primer uso. Las muestras se colectaron junto con residuos de plásticos (envoltorios plásticos transparentes, bolsas de basura y algunas bolsas plásticas de colores); posiblemente elaborados con PEBD y con signos de deterioro (Figura 5).



Figura 5. Colecta de las muestras, con un nucleador a profundidades de 10, 20 y 30 cm.

7.2.2 Procesamiento de muestras

Se utilizó la metodología de Uribe, et al. (2010) modificando algunos puntos. Como primer paso se almacenaron las muestras recolectadas a 4 °C para su conservación. El procesamiento de las muestras colectadas se realizó en el laboratorio de Microbiología de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

Los tres niveles colectados (10, 20 y 30 cm de profundidad) fueron mezclados para obtener una muestra homogénea por sitio de muestreo. Se pesaron 20 g de las muestras de suelo y se inocularon por triplicados en matraces con MSM integrado por (g.L⁻¹) MgSO₄(7H₂O), 0,5 g; KH₂PO₄, 0,5 g; Na₂HPO₄(12H₂O), 2,52 g; NH₄Cl, 1 g; CaCl₂, 0,002 g; MnSO₄(7H₂O), 0,007 g; FeSO₄(7H₂O), 0,001 g y ZnSO₄(7H₂O), 0,007 g. Añadiendo así mismo los fragmentos de plásticos con signos de deterioro, previamente recolectados (Figura 6). Las muestras se incubaron a 35 °C con agitación constante a 160 rpm, durante 20 días.



Figura 6. Primera fase de adaptación en medio de sales minerales con bolsas de plástico del sitio de muestreo.

7.2.3 Fase de aislamiento

Para el aislamiento de las bacterias se utilizó la técnica de extensión por superficie de Winn et al. (2008) la cual consiste en, realizar diluciones seriales en peptona al 1 %, 10^1 10^2 10^3 10^4 y 10^5 . Posteriormente se tomaron 100 μ l de cada una de las diluciones y se inocularon por extendido en placas con ayuda de un asa de vidrio Digralsky, en agar Eosina Azul de Metileno (EAM), agar Soya Trypticaseína y agar Cetrimida, con la finalidad de tener diversas colonias aisladas y se incubaron por 48 horas a 35 °C.

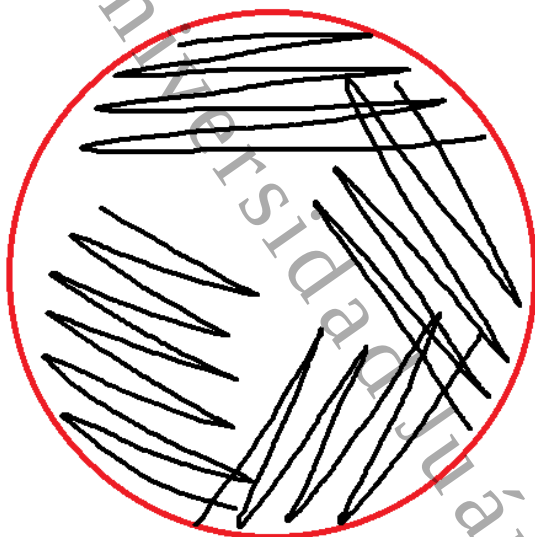


Figura 7. Aislamiento utilizando la técnica de 4 estrías.

posterior uso (Winn et al., 2008).

Las cepas puras fueron identificadas, mediante pruebas bioquímicas, utilizando el sistema de identificación miniaturizado API® 20NE (bioMérieux).

7.3 Fase 2

7.3.1 Diseño experimental

El experimento se realizó con una sola especie bacteriana por cada tratamiento y por duplicado. Se realizó una fase de adaptación y una de degradación. La fase de adaptación tuvo como objetivo determinar, que cepas bacterianas tienen la capacidad de adaptarse al PEBD como única fuente de carbono y energía, esta se realizó mediante dos controles y un tratamiento (por cada cepa), el primer control se llevó a cabo en matraces con MSM, sin inocular y con 300 mg de PEBD, el segundo control se realizó en matraces con MSM, inoculado con cepas bacterianas (10×10^5 UFC/ml) y sin PEBD, ambos controles contenían 0.02 ml de peptona y el tratamiento se realizó en matraces con MSM, inoculado con bacterias (10×10^5 UFC/ml), 300 mg de PEBD y suplementado con 0.02 ml de peptona, en esta fase no se realizó medición alguna.

La fase de degradación tuvo como objetivo conocer el porcentaje de remoción del PEBD como única fuente de carbono y energía, así como el crecimiento de las



cepas. Para ello se utilizaron dos controles como en la fase anterior sin adición de peptona y el tratamiento se realizó en matraces con MSM, inoculado con bacterias (10×10^5 UFC/ml) y 300 mg de PEBD, los tratamientos se realizaron por duplicados. Para determinar el crecimiento de las cepas y el índice de biodegradación (IB) se realizaron mediciones iniciales y finales de las UFC/ml y el peso en seco del PEBD.

7.3.2 Fase de adaptación

Utilizando la metodología modificada de Gutiérrez, (2013) se realizó un experimento, con las cepas obtenidas en la fase anterior. Se realizó una turbidez según el tubo 5 de la escala de Mcfarland (1.5×10^9 UFC/ml), con la ayuda de un hisopo estéril, a partir de un cultivo de 24 h en agar Soya Trypticaseína, las colonias fueron transferidas a un tubo de ensayo con 9 ml de peptona alcalina al 1 %, hasta obtener la turbidez 5.

Posteriormente se inocularon 2 ml de esta solución, en matraces de Erlenmeyer con 100 ml de MSM suplementado con 0.02 ml de peptona y 300 mg de PEBD. Estos se mantuvieron en agitación constante a 120 rpm con una temperatura de 35 °C por 30 días (Figura 8).



Figura 8. Fase de adaptación en medio de sales minerales con 300 mg de PEBD.



7.4 Fase 3

7.4.1 Fase de degradación

A partir de los matraces de la fase anterior se inocularon 5 ml en un nuevo matraz con 100 ml de MSM y 300 mg de raspadura de PEBD, obtenidos de bolsas de primer uso, como única fuente de carbono y energía. Este nuevo medio inoculado de igual manera se mantuvo en agitación constante a 120 rpm con una temperatura de 35 °C por 60 días (Figura 9).

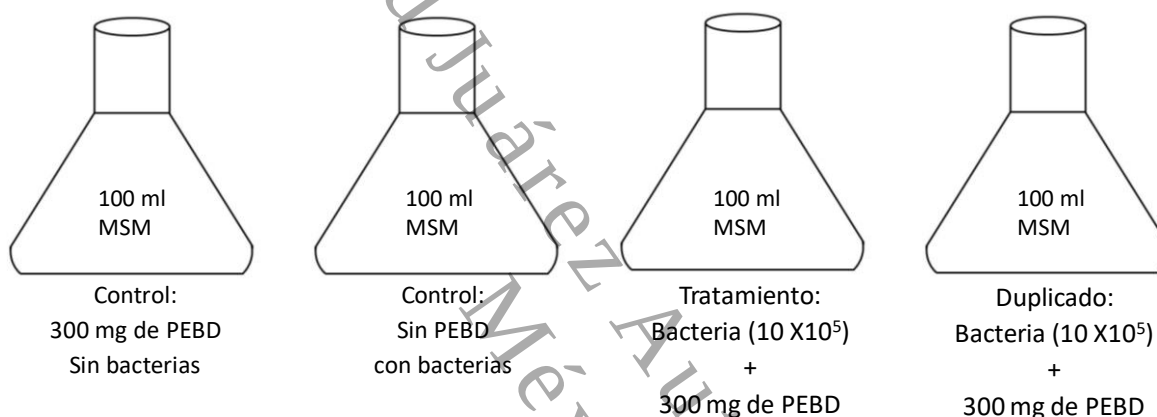


Figura 9. Diseño experimental para la degradación de PEBD, utilizando bacterias aisladas en suelo de un relleno fitosanitario, suspendidas en MSM; PEPD (polietileno de baja densidad).

Una vez cumplido los 60 días del experimento se procedió a tomar muestras de los matraces para realizar el conteo de UFC y el peso del plástico. Como primera fase se empleó el método de cuenta viable. Para esto se realizaron diluciones seriadas de 10^1 10^2 10^3 10^4 y 10^5 , inoculando el primer tubo de ensayo con 1 ml del matraz. Cada tubo de ensayo contenía 9 ml de peptona al 1 %. Una vez obtenida la dilución seriada, se inocularon 100 μ l de cada tubo de ensayo en sus diferentes concentraciones a cajas de Petri con agar Soya Trypticaseina y con ayuda de un asa de vidrio Digrafsky, se realizó un extendido por toda la superficie de la placa. Se incubaron de 24 a 48 h según fue el crecimiento.

Para pesar el plástico, después de tomar la muestra anterior, se utilizó una bomba de vacío y un filtro de membrana nitrocelulosa Millipore, se filtró el contenido del matraz para obtener únicamente el PEBD. Se aplicaron 3 lavados, un lavado con



agua destilada por 5 minutos, un lavado con hipoclorito de sodio al 10 % por 10 minutos y un último lavado con alcohol etílico de 70° por 10 minutos. Posteriormente el PEBD se introdujo en un horno Riossa a 50 °C por 24 horas.

Para determinar el peso perdido se realizó la siguiente formula:

$$P0-P1=Pp$$

Donde:

P0 = Peso inicial.

P1 = Peso final.

Pp = Peso Perdido.

Para determinar el índice de biodegradación (IB) se utilizó la siguiente formula:

$$(Pp) * (100) / P0 = IB.$$

(Metodología modificada de Uribe et al., 2010).

7.5 Prueba estadística

Para determinar si había diferencias significativas entre los valores de IB de cada especie utilizada, se realizó una prueba de ajuste de bondad por ji-cuadrada, para datos que no siguen una distribución normal, utilizando el paquete estadístico Statgraphics centurion®.

8. RESULTADOS

8.1 Caracterización e identificación de cepas bacterianas

Se realizó una adaptación en MSM con muestras de suelos y residuos de plásticos, que provienen del relleno sanitario. Se aislaron 48 cepas bacterianas de las cuales se seleccionaron 18 cepas, estas presentaban un rápido y mayor crecimiento, estas cepas se identificaron bioquímicamente, después de una incubación por 30 días a 35 °C. Las cepas fueron agrupadas en 4 familias: *Pseudomonadaceae*, *Aeromonadaceae*, *Burkholderiaceae* y *Rhizobiaceae*. Las especies con mayor presencia fueron: *Pseudomonas aeruginosa* (77.7 %), seguida de *Aeromonas*



hydrophila (5.5 %), *Burkholderia cepacia* (11.1 %) y *Rhizobium radiobacter* (5.5 %) (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Especies identificadas a partir de muestras de suelo de un relleno sanitario en Teapa, Tabasco; *P. aeruginosa* (Pa); *A. hydrophila* (Ah); *B. cepacia* (Bc) y *R. radiobacter* (Rr).

Tratamiento	Medio de cultivo	Color	Especie
Pa18	EAM	Morado con halo blanco	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Pa17	EAM	Rosa pálido	
Pa04	EAM	Morado pálido con halo blanco	
Pa06	EAM	Rosa con halo blanco	
Pa14	EAM	Morado pálido	
Pa01	Soya tripticasina	Amarillo pastel	
Pa10	Soya tripticasina	Café	
Pa07	Soya tripticasina	Crema	
Pa05	Soya tripticasina	Blanco	
Pa11	Soya tripticasina	Crema-café	
Pa08	Soya tripticasina	Naranja pálido	
Pa09	Soya tripticasina	Naranja	
Pa03	Soya tripticasina	Crema	<i>Aeromonas hydrophila</i>
Pa02	Cetrimida	Verde	
Ah12	Soya tripticasina	Blanco	<i>Burkholderia cepacia</i>
Bc13	Soya tripticasina	Blanco-crema	
Bc16	EAM	Morado	<i>Rhizobium radiobacter</i>
Rr15	Soya tripticasina	Crema	

Tabla 2. Clasificación taxonómica de las especies aisladas.

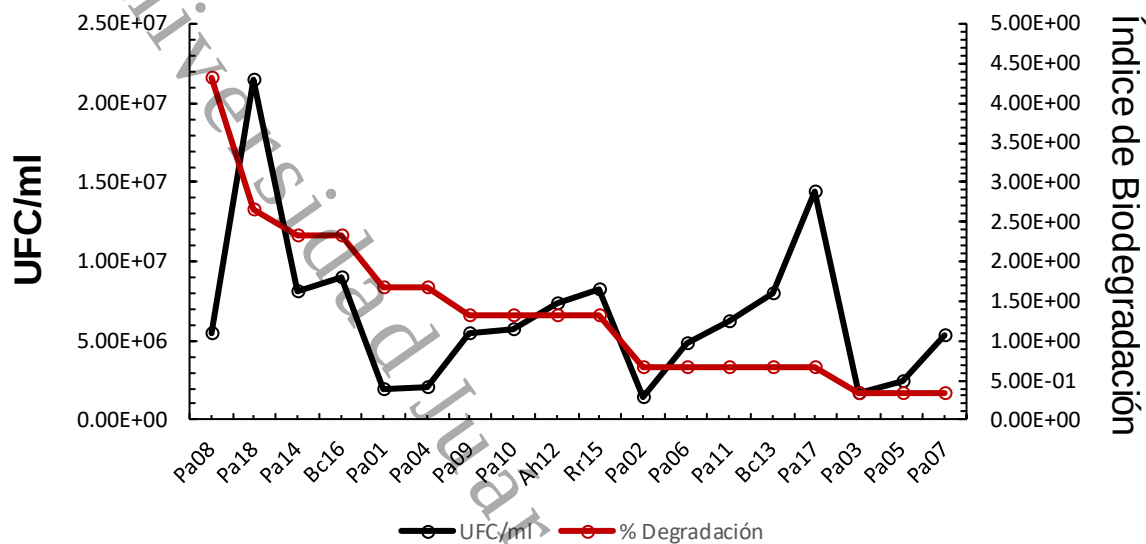
Filo	Clase	Orden	Familia	Genero	Especie
Proteobacteria	Gama	Pseudomonadales	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. aeruginosa</i>
	Proteobacteria	Aeromonadales	<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>A. hydrophila</i>
	Betaproteobacteria	Burkholderiales	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia</i>	<i>B. cepacia</i>
	Proteobacteria alfa	Rhizobiales	<i>Rhizobiaceae</i>	<i>Rhizobium</i>	<i>R. radiobacter</i>



8.2 Índice de biodegradación (IB)

En la Figura 10, se presentan los resultados obtenidos de las UFC/ml y el IB de los diferentes tratamientos, durante la fase de degradación. Los tratamientos con valores altos en crecimiento fueron: Pa18, Pa17, Bc16, Rr15 y Pa14 (21,500,000; 14,400,000; 9,000,000; 8,200,000 y 8,170,000 UFC/ml, respectivamente). Los valores medios fueron los tratamientos: Bc13, Ah12, Pa11, Pa10, Pa09, Pa08, Pa07 y Pa06 (8,000,000; 7,400,000; 6,200,000; 5,700,000; 5,500,000; 5,500,000; 5,300,000 y 4,800,000 UFC/ml, respectivamente). Por último, los tratamientos con valores bajos fueron: Pa05, Pa04, Pa03, Pa02 y Pa01 (2,480,000; 2,080,000; 1,700,000; 1,390,000 y 88,000 UFC/ml, respectivamente).

Con base a los resultados obtenidos del IB, según la formula descrita en la metodología. Se observó que los tratamientos que presentaron un mayor IB fueron: Pa08, Pa18, Pa14, Bc16 y Pa01 (4.33, 2.67, 2.33, 2.33 y 1.67 %, en orden correspondiente). Los valores medios fueron: P04, P10, P09, Ah12, Rr15, Pa06, Pa17 y Pa02 (1.67, 1.33, 1.33, 1.33, 1.33, 0.67, 0.67 y 0.67 %, en orden correspondiente). Finalmente, los tratamientos con los valores más bajos fueron: Bc13, Pa11, Pa07, Pa03 y Pa05 (0.67, 0.67, 0.33, 0.33 y 0.33 %, en orden correspondiente).



Tratamientos

Figura 10. Valores obtenidos de los índices de adaptabilidad y biodegradación de cada tratamiento, los datos corresponden a valores promedios por duplicados realizados por cada tratamiento. *P. aeruginosa* (Pa); *A. hydrophila* (Ah); *B. cepacia* (Bc) y *R. radiobacter* (Rr).

8.3 Prueba estadística

Según la prueba estadística de ajuste de bondad por ji-cuadrada, se encontraron diferencias significativas entre cada especie, con un valor de $P > 0.05$ (0.75) con un nivel de confianza del 95 %. En la figura 11 se muestra la dispersión de los datos, en siete grupos, se observan valores extremos que marcaron la diferencia en el grupo F y G, el mayor grupo de datos se encuentra en el grupo B. Los grupos F y G corresponde a las especies *P. aeruginosa* (Pa08 y Pa18), con IB de 4.33 y 2.67 %, respectivamente. La mayor agrupación de los datos se puede notar en el grupo B, estas cepas corresponden a las especies *P. aeruginosa* (Pa11, Pa02, Pa17 y Pa06) y *B. cepacia* (Bc13) ambas con un IB de 0.67 %.

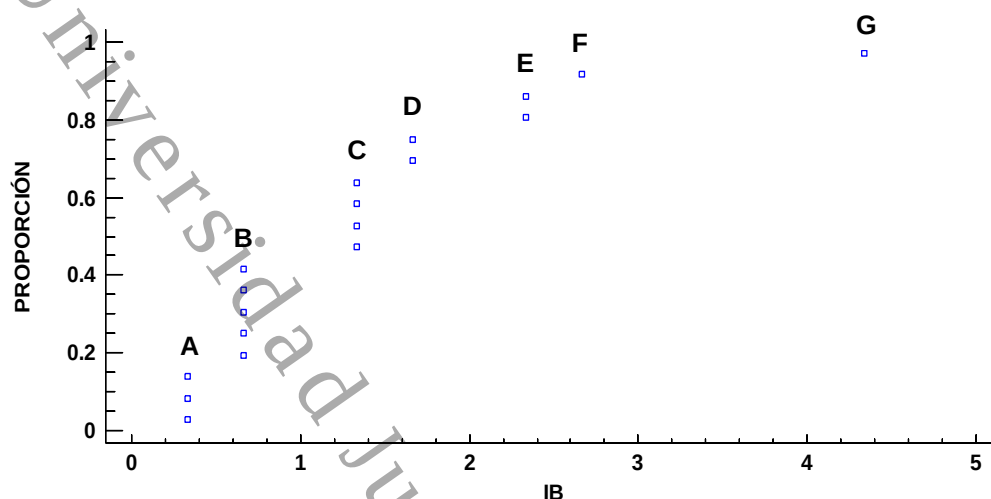


Figura 11. Distribución de los valores en IB (Índice de biodegradación), de las diferentes cepas estudiadas (Gráfica de cuartiles). F y G representan diferencias estadísticas significativas.

9. DISCUSIÓN

En esta investigación se aislaron 48 cepas bacterianas de las cuales solo se evaluaron 18 cepas, provenientes de un relleno sanitario regional de Teapa-Tacotalpa, del estado de Tabasco. La especie con mayor crecimiento fue *P. aeruginosa* (Pa18), seguidas de *B. cepacia* (Bc16), *R. radiobacter* (Rr15) y *A. hydrophila* (Ah12). Las especies con valores altos en el IB fueron *P. aeruginosa* (08), seguidas por *B. cepacia* (Bc16), *A. hydrophila* (Ah12) y *R. radiobacter* (Rr15).

En la biodegradación de plásticos, específicamente en PEBD se han reportado especies de bacterias como *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Sphingomonas* sp., *Arthrobacter* sp., *Streptomyces* sp., *Brevibacillus* sp., *Flavobacterium* sp., *Stenotrophomonas* sp., y *Paenibacillus* sp. hongos como *A. fluvus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Cladosporium* sp., *G. virens*, *Penicillium* sp., *Hyalodendron* sp., *Fusarium* sp., *Chaetomium Globosum*, *Mortierella* sp., *Gliocladium solani*, *Phanerochaete chrysosporium* y *Mucor cicinelloides*; asimismo levaduras como *Rhodotorula* sp., *S. cerevisiae* y *S. pombe* (Gutiérrez, 2013; Uribe, et al., 2010; Yepes, 2014 y Skariyachan, et al., 2017). En la presente investigación, se adaptaron *B. cepacia*, *A.*



hydrophila y *R. radiobacter*, a PEBD, cabe mencionar, que no se encontraron estudios anteriores que reporten estas especies degradando dicho compuesto.

Se encontró que *P. aeruginosa* fue la especie con mayor representatividad en esta investigación. La versatilidad de esta especie bacteriana para adaptarse a diferentes sustratos orgánicos, está regulada por la expresión de ciertos genes, localizados en su genoma bacteriano. El 8.4 % de su carga genética está relacionada con la regulación (cepa PAO1). Presentan una gran cantidad de sistemas de trasportes de membrana (alrededor de 300), la cual le permite captar y metabolizar diferentes sustratos, posee también extensas rutas metabólicas de oxidación, como la β -oxidación (Vanegas y Jiménez, 2013). Además de las ventajas que adquiere en las mutaciones, *P. aeruginosa* puede adquirir material extra cromosómico a través de los plásmidos, generalmente mediante la conjugación (Moradali, Ghods y Rehm, 2017). Convirtiéndose en una de las especies degradadoras por excelencia.

Otras de las especies con una destacada genética es *B. cepacia*, la cual cuenta con una gran variabilidad metabólica, capaz de utilizar compuestos orgánicos como única fuente de carbono y energía, por lo que coloniza diversos sustratos, que van desde suelos hasta ambientes húmedos, incluso forma asociaciones simbióticas con animales y plantas (ampliamente asilados de tejido animal y vegetal), esta especie cuenta con una extraordinaria capacidad genética, posee múltiples cromosomas, amplia variación en el tamaño de su genoma y una excelente adaptabilidad lo que le confiere una gran capacidad mutagénica, recientemente se ha reportado que la cepa SRS-W-2-2016 presenta 218 genes relacionados con la biodegradación y metabolismo de agentes xenobióticos, lo que la hacen una cepa de importancia ambiental (Lessie, Hendrickson, Manning y Devereux, 1996; López et al., 2006 y Pathak et al., 2017).

También se identificó, la especie *A. hydrophila*, reportada como degradadora de tintes textiles (Chen, Wu, Liou y Hwang, 2003). En lodos ribereños contaminados con metales pesados, ha mostrado sensibilidad al cromato y resistencia al mercurio y plomo, los autores mencionan, que presenta un potencial biotecnológico para la



biorremediación de suelos con contaminantes como los metales pesados (Soto, Gutiérrez, Rey y Gonzáles, 2010), debido a la tolerancia a estos metales.

Sorpresivamente *R. radiobacter* presento adaptabilidad al PEBD, aunque solo se encontró un aislamiento de esta especie. Esta cepa ha sido ampliamente reportada como patógena en dicotiledóneas, como; frijol y tomate, causando tumoraciones en el cuello de las plantas (Fernández, Rodríguez, Gómez, Gregorio y Fernández, 2012). También ha sido aislada, a partir, de muestras de suelos contaminados con hidrocarburos y aguas de sentina con diésel, presentando adaptabilidad al diésel en MSM como única fuente de carbono y energía (Ricoy et al., 2012 y Mezquida, Oviedo y Lara, 2015). Aunque las enfermedades por *R. radiobacter* en humanos son raras, atacando a pacientes inmunocomprometidos, en un estudio más recientemente en Tesalónica, Grecia, se reportó como patógeno en una paciente de 24 años con un sistema inmune sano; la paciente tuvo una cirugía por fractura abierta de tibia derecha y el húmero, un año después fue ingresada al hospital por falta de unión de dicha fractura, se aisló la bacteria en el sitio de no unión, posteriormente se le administro tratamiento y en tres meses la paciente mostro mejoría (Stamou, et al., 2018).

Como se puede ver, existen diferentes investigaciones reportando a las cuatro especies identificadas en este estudio, en diferentes sustratos orgánicos. Una de ellas es *P. aeruginosa*, utilizada para la degradación de la 17 α -metiltestosterona, con mayor crecimiento y un 80 % de remoción (Vázquez, 2011). También se ha aprovechado en la producción de biosurfactantes, uno de ellos en específico, son los ramnolípidos, por sus capacidades emulsificantes hacia los hidrocarburos y ampliamente utilizados en la remoción de metales pesados como el cadmio y plomo, los cuales presentaron buena actividad de emulsión (0.5343 Unidades de Actividad Emulsificante por mL) y remociones en estos metales pesados del 98 y 99 % respectivamente (Giraldo, Gutiérrez y Merino, 2014 y Igiri, et al., 2018).

Existen también, investigaciones con la especie *B. cepacia* aislada y reportada anteriormente en trabajos de biodegradación de plástico. Meza (2013) aisló esta especie en su escrito en donde determinó la biodegradabilidad del polietileno de



tereftalato (PET) y de oxopolietileno por acción de bacterias nativas en humus de lombriz, caballo y gallina, logrando degradar un 10.89 % del polietileno de tereftalato y un 39.99 % del oxopolietileno. También se reportan en investigaciones que demuestran una buena adaptación a concentraciones altas de plaguicidas como permetrina y cipermetrina, presentando asimismo altas capacidades de biodegradación del 95.6 y 88 % de los plaguicidas antes mencionados respectivamente, en un periodo de 20 días (Mendoza, Perea, Salvador, Morales y Pérez, 2011). En un estudio reciente elaborado por Pathak et al. (2017) se evaluó genéticamente a *Burkholderia* sp. específicamente la cepa SRS-W-2-2016, la cual fue aislada de muestras de agua, provenientes de un sistema lótico, en EU, a sus alrededores se localiza una planta de armas nucleares, descontinuada, con actividad nuclear, en la cual, aún persiste contaminantes nucleares, esta especie ha presentado genes resistentes a altas concentraciones de uranio y níquel.

En esta investigación se realizaron tratamientos con 14 cepas identificadas como *P. aeruginosa*, de las cuales, solo siete cepas presentaron mejor porcentaje de remoción en MSM suplementado con PEBD, como única fuente de carbono y energía. Estos resultados pueden deberse a que, contienen carga genética diferente, demostrando la diversidad genética de cada una de ellas, y por lo tanto los porcentajes de biodegradación son diferentes. Esta variabilidad también se ha reportado por Kyaw, Champakalakshmi, Sakharkar, Lim, y Sakharkar (2012), con porcentajes de 20 y 11 % (PAO1 B1 y ATCC B2, respectivamente), cada cepa de *P. aeruginosa* presentaba características fenotípicas diferentes, concluyendo que los porcentajes varían debido a la carga genética diferente.

Los resultados de esta investigación se asemejan a los obtenidos por Uribe, et al. (2010), sin embargo, utilizaron consorcios bacterianos. Los porcentajes de reducción fueron del 5.5 %, similar a lo obtenido en esta investigación por *P. aeruginosa* (4.3 %).

Utilizando métodos similares en la colecta de muestras en suelos de vertederos y la forma de adición del PEBD al medio, Bhatia, et al. (2014) en Indore, India, en su estudio, obtuvieron una máxima degradación de PEBD del 17.8 %, seguidas de



14.67, 5.1, 0.9 y 0.6 % en 4 días, siendo el tercer resultado un porcentaje similar al obtenido en este estudio, cabe mencionar que utilizaron una nueva cepa de *Pseudomonas* a la que llamaron *Pseudomonas citronellolis* EMBS027.

En estudios diferentes como el de Gutiérrez (2013), quien obtuvo valores más altos, reportó una máxima degradación de entre el 16.65 y 19.32 % de eliminación de las tiras de PEBD, en agitación constante. Cabe resaltar que el autor, utilizó condiciones diferentes, periodo de 45 días para la adaptación, temperatura, y utilizó consorcios de microorganismos; bacterias, hongos y levaduras. Por lo cual obtuvo valores superiores a los de esta investigación; esta diferencia puede deberse a que, el sitio de muestreo presenta mayor concentración de residuos urbanos y el tiempo de operación es mayor a diferencia del estudiado en este trabajo.

En otro estudio diferente, Skariyachan, et al. (2017), utilizando consorcios de cepas termófilas, aisladas de excretas de vacas, determinaban las condiciones óptimas (pH y Temperatura) para mejorar la eficiencia en el trabajo de estos microorganismos, logrando una máxima biodegradación del 75 ± 2 % en tiras de PEBD. Las condiciones de aislamiento y experimentación fueron diferentes a las de este estudio. Cabe resaltar que su metodología fue muy diferente, desde el aislamiento hasta el tipo de bacterias utilizadas (termófilas).

De igual forma y coincidiendo con Gutiérrez (2013) esta investigación opta por la utilización de un método de agitación constante, ya que se ha reportado anteriormente una mayor eficacia frente a los cultivos en reposo. Esto apuntó a que los microorganismos biodegradadores trabajan mucho más eficientemente en ambientes aerobios.

Finalmente, el análisis de ajuste de bondad de ji-cuadrada, señala que existen diferencias estadísticamente significativas entre especies, utilizando los valores de IB. Los datos extremos y que marcaron la diferencia, corresponden a dos cepas de *P. aeruginosa* (Pa18 con un IB de 2.67 % y Pa08 con un IB de 4.33 %). Como se mencionó en párrafos anteriores *P. aeruginosa* cuenta con una variabilidad y mutagenicidad muy amplia lo que le confiere la capacidad para adaptarse a diferentes sustratos orgánicos como única fuente de carbono y energía.



10. CONCLUSIONES

1. Se aislaron 48 cepas bacterianas de las cuales se identificaron únicamente 18 cepas, siendo estas: *P. aeruginosa* con mayor representatividad (77.7 %), seguidas de *B. cepacia* (11.1 %), *A. hydrophila* (5.5 %) y *R. radiobacter* (5.5 %), a partir de muestras de suelo y residuos plásticos con signos de deterioro del Relleno Sanitario Regional Teapa-Tacotalpa.
2. En este estudio, las cepas bacterianas presentaron adaptación al PEBD como única fuente de carbono y energía, obteniendo un crecimiento de 88,000 a 21,500,000 UFC/ml, *P. aeruginosa* fue la especie con mayor crecimiento. Cabe mencionar que todas fueron capaces de biodegradar el PEBD en un rango de 0.33 a 4.33 %, siendo *P. aeruginosa* la especie que mejor degradó dicho componente, seguida de, *B. cepacia*, *A. hydrophila* y *R. radiobacter*.
3. Los índices de biodegradación son valores bajos, pero coinciden con los reportados por otros autores, además de que no se realizó la experimentación con todas las especies aisladas, las cuales podrían tener mayores índices de biodegradación y crecimiento.
4. Esta investigación es la base para realizar otros estudios, modificando las condiciones de los tratamientos; tipo de plástico o características físicas, pH, temperatura y tiempo de degradación. Se recomienda aplicar otro método de cuantificación del plástico como, cromatografía líquida, que permita determinar metabolitos secundarios; espectrofotometría y microscopia electrónica.
5. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre cada cepa, siendo más notorias en dos cepas de la especie de *P. aeruginosa* (Pa08 y Pa18) con un IB de 2.67 y 4.33 respectivamente, esto puede deberse a las



diferentes carga genéticas entre las cepas las que las capacita para una mayor biodegradación.

6. En este estudio se utilizaron especies bacterianas individualmente por cada tratamiento, se recomienda la utilización de consorcios no solo bacterianos sino de microorganismos como hongos y levaduras para una mejor degradación.



11. ANEXOS

Pa01

MUY BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 7 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.58	URE	20%	ESC	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia pseudomallei	0.1	0.0	URE	0%	ESC	5%	MNEa 99% PACa 94%

Pa02

BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 5 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	98.1	0.67	ESC	1%			
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia pseudomallei	1.8	0.32	ESC	5%	MNEa 99%	PACa 94%	

Pa03

IDENTIFICACION ACEPTABLE							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 5 7 4 4 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.23	ESC	1%	PNPG 1%	NAGa 84%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas fluorescens	0.1	0.0	ESC	1%	PNPG 1%	MNEa 97%	NAGa 85%
			ADla	10%			

Pa04

MUY BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 7 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.58	URE	20%	ESC	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia pseudomallei	0.1	0.0	URE	0%	ESC	5%	MNEa 99% PACa 94%



Pa05

MUY BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 7 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.58	URE	20%	ESC	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia pseudomallei	0.1	0.0	URE	0%	ESC	5%	MNEa 99% PACa 94%

Pa06

MUY BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 7 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.58	URE	20%	ESC	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia pseudomallei	0.1	0.0	URE	0%	ESC	5%	MNEa 99% PACa 94%

Pa07

BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	0 5 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	98.6	0.46	NO3	96%	ESC	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas fluorescens	0.9	0.19	ESC	1%	MNEa 97%	ADla 10%	

Pa08

MUY BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 7 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.58	URE	20%	ESC	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia pseudomallei	0.1	0.0	URE	0%	ESC	5%	MNEa 99% PACa 94%



Pa09

BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	0 5 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	98.6	0.46	NO3	96%	ESC	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas fluorescens	0.9	0.19	ESC	1%	MNEa	97%	ADla 10%

Pa10

BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	0 7 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.36	NO3	96%	URE	20%	ESC 1%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas fluorescens	0.1	0.0	URE	1%	ESC	1%	MNEa 97% ADla 10%

Pa11

BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 7 5 4 7 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.25	URE	20%	ESC	1%	MALa 1%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Aeromonas salmonicida ssp salmonicida	0.1	0.0	URE	0%	CAPa	1%	ADla 1% CITa 1%

Pa14

MUY BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 7 5 4 5 7 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas aeruginosa	99.9	0.58	URE	20%	ESC	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia pseudomallei	0.1	0.0	URE	0%	ESC	5%	MNEa 99% PACa 94%



Pa17

MUY BUENA IDENTIFICACION								
Galería	API 20 NE V8.0							
Perfil	1 7 5 4 5 7 5							
Nota								
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99.9	0.58	URE	20%	ESC	1%		
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra					
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	0.1	0.0	URE	0%	ESC	5%	MNEa 99%	PACa 94%

Pa18

EXCELENTE IDENTIFICACION								
Galería	API 20 NE V8.0							
Perfil	1 3 5 4 5 7 5							
Nota								
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99.9	0.9	URE	20%				
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra					
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	0.1	0.03	URE	0%	MNEa 99%	PACa 94%		

Ah12

IDENTIFICACION ACEPTABLE								
Galería	API 20 NE V8.0							
Perfil	5 7 7 7 7 7 5							
Nota	POSIBILIDAD DE <i>Vibrio fluvialis</i>							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra					
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	99.7	0.17	TRP	89%	URE	1%	ADLa	1%
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra					
<i>Burkholderia cepacia</i>	0.1	0.0	GLU	24%	ADH	1%	URE	1%
			PACa	99%			MALa	8%
Pruebas complementarias(s)	GLUCOSA _g		O/129 R					
<i>Aeromonas caviae</i>	2%		+					
<i>Vibrio fluvialis</i>	0%		-					
<i>Aeromonas hydrophila</i>	94%		+					



Bc13

BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 4 4 7 7 7 5						
Nota	POSIBILIDAD DE Burkholderia gladioli						
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia cepacia	95.9	0.37	MALa	8%	PACa	99%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas fluorescens	1.4	0.02	ADH	80%	ESC	1%	MALa 1% ADLa 10%
Pruebas complementarias(s)	CELac	SUCROSAac					
Burkholderia cepacia	+	+					
Burkholderia gladioli	-	-					

Bc16

BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 5 6 5 5 7 7						
Nota	POSIBILIDAD DE Burkholderia gladioli						
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Burkholderia cepacia	99.8	0.29	ADH	1%	MNEa	99%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas fluorescens	0.1	0.0	ESC	1%	PNPG	1%	MNEa 97% ADLa 10%
			PACa	18%			
Pruebas complementarias(s)	CELac	SUCROSAac					
Burkholderia cepacia	+	+					
Burkholderia gladioli	-	-					

Rr15

BUENA IDENTIFICACION							
Galería	API 20 NE V8.0						
Perfil	1 6 6 7 7 5 5						
Nota							
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				
Rhizobium radiobacter	98.6	0.4	CAPa	2%	CITa	1%	
Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra				
Pseudomonas luteola	0.9	0.19	URE	1%	NAGa	12%	OX 2%



12. LITERATURA CITADA

- Lessie, T., Hendrickson, W., Manning, B., & Devereux, R. (1996). Genomic complexity and plasticity of *Burkholderia cepacia*. *FEMS Microbiol Lett*, 144(2-3), 117-128. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378109796003436>
- Marivela, C., C. Guerrero, L., López, V. Sánchez y A. Toledo. 2002. "Metales pesados y medio ambiente." Grupo de seminario 1-26, Barcelona, España.
- Volke, T., y Velasco, J. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Recuperado de https://www.academia.edu/30774585/Libro_Tecnologias_de_Remediacion_para_Suelos_Contaminados_-_Tania_Volke
- Chen, K.; Wu, J.; Liou, D. y Hwang, S. (2003). Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. *Journal of Biotechnology*, 101(2003), 57-68. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165602003036?via=ihub>
- Frías, A. C., Ize, I. I., y Gavilán, A. (2003). La situación de los envases de plástico en México. *Gaceta Ecológica*, (69), 67-82. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53906905>.
- Singleton, P. (2003). *Bacterias en biología, biotecnología y medicina*. Zaragoza España: Editorial Acribia.
- Torres, D. (2003). El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. *Ecosistemas*, 12(2), 1-5. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/26495235_El_papel_de_los_microorganismos_en_la_biodegradacion_de_compuestos_toxicos
- López, J. B., Quintero, G., Guevara, A. L., Jaimes, D. C., Gutiérrez, S. M., y Miranda, J. (2006). Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*, 4(5), 82-90. Recuperado de <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/351>



- Méndez, C., Vergaray G., Béjar V., y Cárdenas, K. (2007). Aislamiento y caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno. *Revista Peruana de biología*, 13(3), 203-205. Recuperado de <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/2338/2040>
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático [INECC]. (2007). Obtenido de Tecnologías de remediación. Recuperado de: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/372/tecnolog.html>
- Arcienega, I. (2008). Aislamiento de microorganismos degradadores de tereftalato de polietileno (PET) en medio ambiente combinado. (tesis de pregrado). Instituto Politécnico Nacional, México D.F
- Lucas, N., Bienaime, C., Belloy, C., Queneudec, M., Silvestre, F., & Nava, J. (2008). Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques. *Chemosphere*, 73(2008), 429-442. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.0
- Winn, C., Allen, S.D., Janda, W.M., Koneman, E.W., Procop, G.W., Schreckenberger, P. C. y Woods, G. L. (2008). *Koneman Diagnóstico microbiológico Texto y Atlas en color*. Buenos Aires, Argentina: Panamericcana.
- Soto, C., Gutiérrez, S., Rey, A., y Gonzáles, E. (2010). Biotransformación de metales pesados presentes en lodos ribereños de los ríos Bogotá y Tunjuelo. *Nova*, 8(14), 195-205. Recuperado de <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/450/1101>
- Uribe, D., Giraldo, D., Gutiérrez, S., y Merino, F. (2010). Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú. *Revista Peruana de Biología*. 17(1), 133 - 136. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195014936017>
- Madrigal, J.F y Shastri, R. (2011). *Manual de plásticos para diseñadores*. San Luis Potosí, S.L.P: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Mendoza, J. C., Perea, Y. S., Salvador, J. A, Morales, J. A., y Pérez, G. (2011). BIODEGRADACIÓN BACTERIANA DE PLAGUICIDAS PERMETRINA Y



- CIPERMETRINA EN CULTIVO LOTE. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 2(3), 45-55. Recuperado de <https://www.redalyc.org/html/3236/323627683005/>
- Vázquez, L. (2011). Aislamiento y caracterización de bacterias capaces de degradadoras de 17 α - metiltestosterona a partir de biopelícula de filtros biológicos de un sistema de masculinización de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (tesis de maestría). Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco.
- Fernández, S. P., Rodríguez, G., Gómez, N., Gregorio, M. R., y Fernández, Y. L. (2012). Enfermedades en plantas en el Estado de Michoacán. *Biológicas*, 14(2), 75-89. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Sylvia_Fernandez-Pavia/publication/248703339_Enfermedades_en_plantas_en_el_estado_de_Michoacan/links/0c9605210fcb96a1880000000/Enfermedades-en-plantas-en-el-estado-de-Michoacan.pdf
- Kyaw, B. M., Champakalakshmi, R., Sakharkar, M. K., Lim, C. S., & Sakharkar, K. R. (2012) Biodegradation of low density polythene (LDPE) by Pseudomonas species. *Indian Journal of Microbiology*, 52(3), 411–419. Doi: 10.1007 / s12088-012-0250-6
- Ricoy, C., Boulé, N., Amaíz, L., Torcuatti, E., Medina, L., Valbuena, O., y Fernández, Z. (2012). Transferencia de la capacidad degradadora de combustible diesel a Escherichia coli DH5 α por plásmidos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo. *Interciencia*, 37(9), 671-677. Recuperado de <https://www.redalyc.org/html/339/33925502011/>
- Gutiérrez, J. G. (2013). Biodegradación de polietileno de baja densidad por consorcio microbiano (tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México.
- Meza, M. (2013). BIODEGRADABILIDAD DE POLIETILENO TEREFTALATO Y DE OXOPOLIETILENO, A NIVEL DE LABORATORIO, POR LA ACCIÓN DE BACTERIAS NATIVAS PRESENTES EN HUMUS DE LOMBRIZ, CABALLO



- Y GALLINA (tesis de pregrado). Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. Sangolquí, Ecuador.
- Vanegas, J. M., y Jiménez, J. N. (2013). Principales características de la genética bacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* que contribuyen con su patogénesis y resistencia. *Hechos Microbiol*, 4(2), 98-105. Recuperado de http://bibliotecadigital.udea.edu.co/dspace/bitstream/10495/10525/1/VanegasJohanna_2013_GeneticaBacterianaPseudomonas.pdf
- Bhatia, M., Girdhar, A., Tiwari, A., & Nayarisseri, A. (2014). Implications of a novel *Pseudomonas* species on low density polyethylene biodegradation: an in vitro to in silico approach. *SpringerPlus*, (3)497. doi:10.1186/2193-1801-3-497
- Duran, C. y Sanguino, I. (2014). DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REMOCIÓN DE GASOIL POR UN CONSORCIO MICROALGAL PROVENIENTE DE LA ISLA DE TOAS, MUNICIPIO ALMIRANTE PADILLA, ESTADO ZULIA. Universidad Rafael Urdaneta. República Bolivariana de Venezuela.
- Giraldo, J. D., Gutiérrez, S. y Merino, F. (2014). Actividad emulsificante y de remoción de metales pesados del ramnolípido producido por *Pseudomonas aeruginosa* PB 25. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 80(1), 35-44. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2014000100005
- Restrep, J., Bassi, A., & Thompson, M. (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene. *International Biodeterioration & Biodegradation* 88(2014) 83-90. Doi: 10.1016/j.ibiod.2013.12.014
- Yepes, L. M. (2014). Degradación de Polietileno de Baja Densidad Utilizando Hongos. Revisión Sistemática de la Literatura (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Mezquida, R., Oviedo, L. E., & Lara, C. (2015). Biodegradation in vitro of diesel bilge waters using a microbial native consortium isolated from Córdoba, Colombia. *Biotecnología Aplicada*, 32(2), 2101-2105. Recuperado de



- http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-28522015000200002&lng=es&tlng=en
- Sun, W., Dong, Y., Gao, P., Fu, M., Ta, K., & Li, J. (2015). Microbial communities inhabiting oil-contaminated soils from two major oilfields in Northern China: Implications for active petroleum-degrading capacity. *Journal of Microbiology*, 53(6), 371–378. doi: 10.1007 / s12275-015-5023-6.
- Vimala, P. & Lea, M. (2015). Biodegradation of polyethylene using *Bacillus subtilis*. *Procedia Technology*, 24(2016), 232-239. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212017316301153>
- Asociación Nacional de industrias del Plástico [ANIPAC]. (2016). Evolución de la industria de transformación de plástico en 2016. Recuperado de: anipac.org.mx.
- Acuña, N. (2017). Revisión bibliográfica sobre los microorganismos biodegradadores de polietileno de baja densidad y sus efectos en el material. (tesis de pregrado). Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia.
- Moradali, M. F., Ghods, S., & Rehm, B. H. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, (7)39. Doi:10.3389/fcimb.2017.00039
- Pathak, A., Chauhan, A., Stothard, P., Green, S., Maienschein, M., Jaswal, R., & Seaman, J. (2017). Genome-centric evaluation of *Burkholderia* sp. strain SRS-W-2-2016 resistant to high concentrations of uranium and nickel isolated from the Savannah River Site (SRS), USA. *Genomics Data*, 12(2017), 63-68. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213596017300272>
- Skariyachan, S. A, Setlur, A., Naik, S. Y, Naik, A. A, Usharani, M., & Vasist, K. S. (2017). Enhanced biodegradation of low and high-density polyethylene by novel bacterial consortia formulated from plastic-contaminated cow dung under thermophilic conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(9), 8443-8457. doi: 10.1007 / s11356-017-8537-0



- Google. (2018). [Mapa de ubicación del relleno sanitario de Teapa, Tabasco]. Recuperado de <https://www.google.com/maps/place/17%C2%B032'17.5%22N+92%C2%B052'32.3%22W/@17.5423817,-92.8850184,1723m/data=!3m1!1e3!4m5!3m4!1s0x0:0x0!8m2!3d17.5381989!4d-92.8756328>.
- Gutierrez, K. (2018). Influencia de factores ambientales de crecimiento microbiano en la degradación de polietileno de baja densidad por la bacteria *Pseudomona aeruginosa* en Huacayo (tesis de pregrado). Escuela Académico Profesional de Ingeniería Ambiental. Huacayo, Perú.
- Igiri, B. E., Okoduwa, S., Idoko, G. O., Akabuogu, E. P., Adeyi, A. O., & Ejiogu, I. K. (2018). Toxicity and Bioremediation of Heavy Metals Contaminated Ecosystem from Tannery Wastewater: A Review. *Journal of toxicology*, (2018), 2568038. doi:10.1155/2018/2568038
- PlasticsEurope. (2018). ¿Qué es el plástico?. Recuperado de <https://www.plasticseurope.org/es/about-plastics/what-are-plastics>
- Stamou, A., Pavlopoulos, C., Roumeliotis, S., Samoladas, E., Xatzokos, I., & Kontopoulou, K. (2018). Nonunion Humeral Fracture Infection Caused by *Rhizobium radiobacter* in a 24-Year-Old Healthy Patient: A Rare Case Report. *Case reports in infectious diseases*, (2018), 8627165. doi:10.1155/2018/8627165
- Asociación Nacional de industrias del Plástico [ANIPAC]. (2019). Tipos de plásticos. Recuperado de: <https://anipac.com/informacion-de-plasticos/#>
- Jiang, B., Zhang, N., Xing, Y., Lian, L., Chen, Y., Zhang, D., Li, G., Sun, G & Song, Y. (2019). Microbial degradation of organophosphorus pesticides: novel degraders, kinetics, functional genes, and genotoxicity assessment. *Environmental Science and Pollution Research*. doi: 10.1007 / s11356-019-05135-9



Sher, S., y Rehman, A. (2019). Uso de bacterias resistentes a metales pesados: una estrategia para la biorremediación de arsénico. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1-14. doi: 10.1007 / s00253-019-09933-6