



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

---

Instituto de Ciencias  
Centro de Agroecología

Maestría en Manejo Sostenible de Agroecosistemas

Capacidad metabólica-adaptativa en consorcio bacteriano  
con aplicación en prácticas agroecológicas

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Manejo Sostenible de Agroecosistemas

Presenta

Yair Garcia Saavedra

Director de la Tesis

Dr. José Antonio Rivera Tapia

ASESORES

Dr. Omar Romero Arenas

Dr. Fernando Hernández Aldana

Dr. Primo Sánchez Morales

REVISOR EXTERNO

Dra. Lilia Cedillo Ramírez

Puebla, Pue. Septiembre. 2018



# BUAP

La presente tesis, titulada: “**Capacidad metabólica-adaptativa en consorcio bacteriano con aplicación en prácticas agroecológicas**”, realizada por el alumno **Ing. Yair Garcia Saavedra**, bajo la dirección del Comité Tutorial indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requerimiento parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN  
MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMITÉ TUTORAL

DIRECTOR: \_\_\_\_\_

Dr. José Antonio Rivera Tapia

ASESOR: \_\_\_\_\_

Dr. Omar Romero Arenas

ASESOR: \_\_\_\_\_

Dr. Fernando Hernández Aldana

ASESOR EXTERNO: \_\_\_\_\_

Dr. Primo Sánchez Morales

REVISOR EXTERNO: \_\_\_\_\_

Dra. Lilia Cedillo Ramírez

Puebla, Pue., Septiembre de 2018.

Posgrado en Manejo Sostenible de Agroecosistemas  
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio VAL 1, Km 1.7 carretera a  
San Baltazar Tetela, C.P. 72960,  
San Pedro Zacachimalpa, Puebla  
01 (222) 229 55 00 Ext. 1302  
masagro@correo.buap.mx

## **Agradecimientos**

Le doy gracias a Dios por bendecir y prestarme la vida, para vivir esta grata experiencia en este posgrado, en el cual pude mejorar académicamente y personalmente.

Agradezco al CONACYT por el otorgamiento de la beca y seguro médico, y al Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por permitirme cursar este posgrado, ya que sin estas instituciones no habría sido posible.

A mi tutor, Dr. José Antonio Rivera Tapia le agradezco fervientemente por aceptarme bajo su tutela y ser muy paciente conmigo, al enseñarme y corregirme sobre cómo trabajar de una forma óptima.

De igual manera agradezco a mi comité tutorial por orientarme, aconsejarme y apoyarme en la elaboración del presente trabajo. Por hacer accesibles sus instalaciones para la elaboración de los diferentes experimentos.

A mis padres y mi hermana por su apoyo incondicional y alentarme de múltiples formas para poder seguir adelante, y a mis amigos por su compañía y palabras de aliento para aprovechar del aprendizaje.

Agradezco a mis maestros por animarme continuamente a seguir adelante a pesar de las adversidades, enseñándome que se deben hacer las cosas con constancia y disciplina.

***“Esta investigación fue realizada gracias al apoyo del Consejo de  
Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla”***

## Índice General

RESUMEN .....	vi
ABSTRACT .....	vii
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes.....	3
III. Marco teórico.....	6
3.1 Microorganismos .....	6
3.2 Las bacterias .....	7
3.2.1 Rol de las bacterias en la agricultura .....	7
3.2.2 Procesos de resistencia adaptativa en las bacterias.....	8
3.3 Plaguicidas .....	10
3.3.1 Efectos de los plaguicidas .....	11
3.3.2 Carbofuran.....	13
3.3.3 Esteron 47.....	14
3.3.4 Malation 1000.....	15
3.3.5 Marco legislativo de los plaguicidas .....	15
3.4 El agroecosistema.....	17
3.5 Prácticas agroecológicas .....	19
3.6 Espectroscopia UV-Vis .....	20
3.7 Biodegradación .....	20
3.7.1 Biodegradación bacteriana .....	21
IV. Justificación.....	23
V. Objetivos.....	24
5.1 Objetivo general .....	24
5.2 Objetivos particulares.....	24
VI. Hipótesis.....	24
VII. Metodología.....	25
7.1 Material biológico.....	25
7.2 Aislamiento bacteriano.....	26
7.3 Identificación bacteriana .....	26
7.4 Ensayos de actividad metabólica .....	27
7.5 Evaluación y cuantificación de la formación de biopelícula .....	27
7.6 Ensayos de viabilidad en presencia de plaguicidas .....	28
7.7 Preparación de los inóculos bacterianos .....	28
7.8 Detección de la descomposición de los plaguicidas por espectroscopia UV-vis.....	29
7.9 Análisis estadístico.....	30
VIII. Resultados.....	31
IX. Discusión.....	49
X. Conclusiones .....	57
XII. Literatura citada. ....	58
III. Anexo .....	74

## Índice de tablas

<b>Tabla 1. Relación de muestras a analizar en el proyecto .....</b>	<b>25</b>
<b>Tabla 2. Relación de la identificación bacteriana .....</b>	<b>31</b>
<b>Tabla 3. Actividad metabólica en muestras de Mochis, Sinaloa .....</b>	<b>33</b>
<b>Tabla 4. Actividad metabólica en muestras de Vicente Guerrero, Tlaxcala....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 5. Actividad metabólica en muestras de Chachapa, Puebla .....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 6. Determinación de la formación de biopelícula .....</b>	<b>35</b>
<b>Tabla 7. Degradación del 2,4-D, considerándose como referencia</b>	
<b><math>\lambda = 283 \text{ nm}</math> .....</b>	<b>46</b>
<b>Tabla 8. Degradación del Malation, considerándose como referencia</b>	
<b><math>\lambda = 230 \text{ nm}</math> .....</b>	<b>47</b>
<b>Tabla 9. Degradación del Carbofuran, considerándose como referencia</b>	
<b><math>\lambda = 276 \text{ nm}</math> .....</b>	<b>48</b>

## Índice de figuras

Figura 1. Interpretación de la prueba Compact Dry Nissui EC para la identificación de los aislamientos .....	31
Figura 2. Actividad positiva en las diferentes pruebas metabólicas .....	32
Figura 3. Actividad negativa en las diferentes pruebas metabólicas .....	32
Figura 4. Diferentes crecimientos bacterianos en los medios CAM .....	33
Figura 5. Prueba de viabilidad de los aislamientos bacterianos en agar Mueller-Hinton, en presencia de discos impregnados con los plaguicidas al 80 % .....	36
Figura 6. Gráfico de los halos bacterianos, de aislamientos provenientes de los lugares de muestreo en presencia de Carbofuran en sus diferentes porcentajes de concentración .....	37
Figura 7. Gráfico de los halos bacterianos, de aislamientos provenientes de los lugares de muestreo en presencia de 2,4-D en sus diferentes porcentajes de concentración .....	38
Figura 8. Gráfico de los halos bacterianos, de aislamientos provenientes de los lugares de muestreo en presencia de Malation en sus diferentes porcentajes de concentración .....	39
Figura 9. Prueba de viabilidad de los aislamientos bacterianos de Vicente Guerrero .....	41
Figura 10. Análisis estadístico de REGR de los porcentajes del Carbofuran vs los lugares de muestreo .....	42
Figura 11. Análisis estadístico de REGR de los porcentajes del 2,4-D vs los lugares de muestreo .....	43
Figura 12. Análisis estadístico de REGR de los porcentajes del Malation vs los lugares de muestreo.....	44
Figura 13. Comparativo entre la absorbancia y las UFC/mL .....	45
Figura 14. Comparación del porcentaje de degradación del 2,4-D .....	46
Figura 15. Comparación del porcentaje de degradación del Malation .....	47
Figura 16. Comparación del porcentaje de degradación del Carbofuran .....	48

## RESUMEN

Gran parte de la producción de los alimentos en México se basa en el uso de insumos industriales, entre los cuales se encuentran una gran diversidad de agroquímicos, los cuales causan diversos efectos al ambiente y a la salud pública. Es por esto que se recomienda optar por una producción más cercana a la Agroecología y biorremediar los suelos contaminados con estas sustancias. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los procesos metabólicos en aislamientos bacterianos ambientales con aplicación en prácticas agroecológicas. Se realizaron muestreos de suelo en zonas con diferente manejo agrícola, las zonas de estudio son pertenecientes a Vicente Guerrero localizado en Tlaxcala, Los Mochis, Sinaloa y Chachapa, Puebla. De cada una de las muestras se realizó la identificación bacteriana mediante un medio cromogénico, las bacterias se colocaron en diferentes medios para conocer su actividad metabólica, se determinó su capacidad de formación de biopelícula, la inhibición bacteriana en presencia de 2,4-D, Malation y Carbofuran. Y se evaluó la degradación de los plaguicidas por medio de un consorcio bacteriano conformado de los aislamientos que presentaron mayor viabilidad en presencia de los plaguicidas. Se identificó a *Pseudomonas* y coliformes, los aislamientos de las muestras de manejo convencional tuvieron mayor actividad en presencia de diferentes sustratos, mostrando mayor capacidad para la formación de biopelícula, así mismo tuvieron menor inhibición en presencia de los tres plaguicidas evaluados. El consorcio bacteriano evaluado degradó de forma más eficaz al 2,4-D, enseguida al Malation y Carbofuran. Los aislamientos bacterianos con mejor actividad metabólica frente a diferentes sustratos, formación de biopelícula y menor inhibición frente a los tres plaguicidas evaluados fueron los provenientes de parcelas con manejo convencional. Por otra parte, en términos de degradación, el que fue degradado en mayor proporción fue el 2,4-D.

**Palabras clave:** manejo agroecológico, suelo, microorganismos, actividad microbiana, plaguicidas.

## ABSTRACT

A lot of the food production in Mexico is based on the use of industrial inputs, among which are a great agrochemicals diversity, which cause various effects on the environment and public health. That is why it is recommended to opt for a production closer to Agroecology and make bioremediation of the soils contaminated with these substances. The objective in this study was to evaluate the metabolic processes in environmental bacterial isolates with application in agroecological practices. Soil samplings were carried out in areas with different agricultural management, study areas belong to Vicente Guerrero located in Tlaxcala, Los Mochis, Sinaloa and Chachapa, Puebla. Bacterial identification was carried out by means a chromogenic medium for each sample, bacteria were placed in different media to determine their metabolic activity, their capacity to produce biofilm, bacterial inhibition in presence of 2,4-D, Malation and Carbofuran. And the pesticides degradation was evaluated by means a consortium bacterial formed of isolates that presented highest viability in presence of pesticides. *Pseudomonas* and coliforms were identified, isolates from the conventional management samples had greater activity in presence of different substrates, showing greater capacity for formation of biofilm, likewise they showed less inhibition in presence of the three pesticides evaluated. The bacterial consortium degraded 2,4-D more efficiently, followed by Malation and Carbofuran. The bacterial consortium evaluated, more efficiently degraded to 2,4-D, followed by Malation and Carbofuran. Bacterial isolates with better metabolic activity in different substrates, biofilm formation and lower inhibition against the three pesticides evaluated were those from plots with conventional management. Otherwise in terms of biodegradation the one that was degraded in a greater proportion was 2,4-D.

**Keywords:** agro-ecological, management, soil, microorganisms, microbial activity, pesticides.

## **I. Introducción.**

La Agroecología está relacionada con un enfoque de la agricultura ligado al ambiente y sensibilidad social, sin dejar a un lado la remuneración económica; se centra en la sustentabilidad del sistema de producción y no solo en la producción. “La Agroecología se refiere al estudio de fenómenos netamente ecológicos dentro del campo de cultivo, tales como relaciones depredador/presa, o competencia de cultivo/maleza” (Altieri, 1999).

En un agroecosistema sustentable se deben de tomar en consideración la conservación de los recursos renovables, la adaptación del cultivo al medio ambiente y mantener la productividad en niveles que sean moderados para conservar la sustentabilidad del sistema. Es por ello que las prácticas deben estar encaminadas a enfatizar la productividad a largo plazo en lugar del corto plazo, tomando en cuenta la sustentabilidad; para acercarse a este tipo de producción el sistema de producción debe de tomar en cuenta: el hacer uso eficiente de los recursos y la energía, mejorando la correlación entre producción- inversión; reducir la pérdida de nutrientes mediante el uso de leguminosas, abonos orgánicos, compostas, entre otros mecanismos de reciclado; sustentar la producción mediante el cuidado de los recursos naturales; reducir costos y aumentar la viabilidad económica (Altieri y Nicholls, 2000).

Así también se debe poner atención a los componentes básicos de un agroecosistema sustentable, entre los cuales se encuentran: el contar con una cubierta vegetal para conservar el suelo y el agua, esto se puede llevar a cabo mediante prácticas de labranza cero, cultivos con mulches, uso de cultivos de cobertura, entre otros; suplementación de materia orgánica mediante la incorporación de abono orgánico y composta, promoción de la actividad biótica del suelo, etc.; mecanismos de reciclado de nutrientes mediante el uso de rotaciones de cultivos, sistemas agropecuarios y/o agroforestales, etc.; regulación de plagas

mediante el control biológico e incluso se puede incluir el manejo integral de plagas (Altieri y Nicholls, 2000).

Así mismo los microorganismos tienen una gran relevancia en la sustentabilidad de un ecosistema, puesto que llevan a cabo múltiples funciones y dan diversos servicios ecológicos como son: La descomposición y mineralización de desechos orgánicos, la regulación de los ciclos biogeoquímicos (nitrógeno, carbono, fósforo, azufre, etc.), la contribución en la retención y liberación de nutrientes en las plantas; generación, mantenimiento y renovación del suelo y su fertilidad; regulación atmosférica de gases traza (producción y consumo: CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>, etc.), regulación de las poblaciones de animales y plantas, control de plagas agrícolas y urbanas; mantenimiento de la productividad primaria de agroecosistemas y ecosistemas, y recuperación del suelo (Wall y Virginia, 2000).

Entre los microorganismos que contribuyen en muchos de los servicios ecológicos están las bacterias, las cuales tienen la capacidad de adaptarse a una gran cantidad de ecosistemas ya que se adaptan a ambientes extremos como altas temperaturas que oscilan por arriba de los 80°C, bajas temperaturas por debajo de los 0°C, alta salinidad, alta alcalinidad en donde puede existir un pH mayor a 8 o incluso alta acidez con pH menor de 4 (Madigan y Mairs, 1997), de igual forma las bacterias son capaces de sobrevivir en desechos radioactivos (Fredrickson *et al.*, 2004). Gracias a estas peculiares características y por su metabolismo están relacionadas con una gran cantidad de procesos de carácter ecológico como antropogénico (Marcano, 2008). Algunos de estos procesos que tienen gran relevancia son los relacionados con la biorremediación de contaminantes, puesto que las bacterias tienen la capacidad de degradar o remover contaminantes altamente tóxicos, entre los cuales se encuentran una gran variedad de compuestos orgánicos (Neves *et al.*, 2006), pesticidas (Ortiz y Sánchez, 2010), metales pesados (Amábilis *et al.*, 2015), entre otros.

## II. Antecedentes

Las bacterias poseen diferentes mecanismos que les ayudan a adaptarse a diferentes condiciones ambientales, en algunas bacterias los D-aminoácidos remodelan el peptidoglucano de la pared celular lo que las ayuda a resistir diferentes entornos ambientales (Cava *et al.*, 2011). Aunado a esto el metabolismo de las bacterias les confiere la capacidad de utilizar una gran cantidad de compuestos como fuente de carbono y energía, de igual forma las bacterias pueden metabolizar contaminantes como metales pesados, azufre, gas, nitrógeno, petróleo e incluso bifenilos policlorados (Tortora *et al.*, 2007). Estas capacidades les confieren a las bacterias mayor facilidad para sobrevivir en ambientes con contaminación y degradar diversos compuestos. Algunas bacterias poseen características que les permiten degradar contaminantes como fenoles (García, 2007), cianuro (Mosquera, 2013), explosivos en forma de Pentolita (Roso, 2011), entre otros.

En Witbank, Mpumalanga, Sudáfrica se tomaron muestras de aguas residuales industriales en una zona con historial minera, a estas muestras de agua se les realizaron diferentes análisis de caracterización (DBO, pH, y oxígeno disuelto), aunado a esto en estas aguas contaminadas con metales pesados se les evaluó la eficacia de atenuación de los metales por medio de *Pseudomonas putida*, *Bacillus licheniformis* y *Peranema* spp.; mostrando que las tasas de eliminación para *Pseudomonas putida* (Co-71 %, Ni-51 %, Mn-45 %, V-83 %, Pb-96 %, Ti-100 % y Cu-49 %), *Bacillus licheniformis* (Al-23 % y Zn-53 %) y *Peranema* spp. (Cd-42 %), siendo las cepas más eficientes *Pseudomonas putida* y *Bacillus licheniformis* (Kamika y Momba, 2013).

Narváez y colaboradores (2008) en el Caribe colombiano realizaron pruebas con un cultivo bacteriano mixto conformado de 11 cepas en presencia de hidrocarburos en diferentes concentraciones como única fuente de carbono. El cultivo mixto fue capaz de degradar el 68.6 % de los hidrocarburos alifáticos con

preferencia de los n-alcenos de cadena larga (C<sub>12</sub>-C<sub>31</sub>), alcanzando un crecimiento máximo de 3.13x10<sup>9</sup> UFC/mL, esto se realizó en concentraciones de 2 % v/v de petróleo crudo en un periodo de 21 días. Algunos de los géneros identificados fueron *Klebsiella*, *Chromobacterium*, *Flavimonas*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* y *Bacillus*.

En otro estudio Benitez y colaboradores (2009) realizaron experimentos de inhibición bacteriana con diferentes plaguicidas en el municipio de Popayán-Colombia, en el estudio los herbicidas presentaron un efecto medianamente tóxico por arriba de los insecticidas y por debajo de los fungicidas, los cuales representan la toxicidad más alta para bacterias (*Bacillus subtilis*).

En la Universidad Autónoma del Estado de Morelos se realizaron estudios de degradación utilizando bacterias, donde se obtuvo un aislamiento de un consorcio bacteriano proveniente de suelos con manejo agrícola, este consorcio contenía cepas identificadas como *Stenotrophomonas maltophilia*, *Proteus vulgaris*, *Vibrio metschnikovii*, *Serratia ficaria*, *Serratia* spp. y *Yersinia enterocolitica*; en los experimentos se evaluó la capacidad de las bacterias de degradar tetraclorvinfos (ácido fosfórico, 2-cloro-1-(2,4,5-triclorofenil) etenildimetilester) como única fuente de carbono, en donde el consorcio mostró factibilidad para usarse en la biorremediación de suelos contaminados con este tipo de pesticidas, así mismo los compuestos hidrolizados se analizaron por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Ortiz y Sánchez, 2010).

En México en el Valle del Yaqui, Sonora se realizaron experimentos en una zona donde existe un historial entre 15 a 25 años de contaminación y manejo de pesticidas. Carrillo y colaboradores (2004), aislaron de muestras de agua, suelo y sedimentos contaminados un cultivo mixto de bacterias conformado por bacilos Gram negativos pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Acinetobacter*; este cultivo se evaluó bajo la presencia de DDT (133 ppm) como única fuente de carbono y en el transcurso de 80 h se degradó con una eficiencia

del 43 %, de igual forma los metabolitos DDD y DDE que son impurezas del DDT comercial fueron completamente degradados sin observar un aumento de su concentración durante el desarrollo del experimento.

Otro caso de estudio donde se utilizaron bacterias para degradar contaminantes fue realizado por Mendoza y colaboradores (2011) en la facultad de ingeniería química de la BUAP. En este estudio se realizó la degradación de permetrina y cipermetrina a concentraciones de 50 y 100 mg/L en un rango de entre 5 a 20 días, con cepas de *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas mendocina*, *Chromobacterium violaceum* y *Burkholderia cepacia*, en reactores por lotes; estas bacterias se aislaron de suelos contaminados por hidrocarburos del municipio de Acatzingo, Puebla. Este consorcio bacteriano tuvo una eficiencia de degradación de más del 90 % para concentraciones de 50 mg/L y para 100 mg/L se obtuvo una eficiencia de degradación a partir del 89 %. En las dos concentraciones se presentó una mayor eficiencia en la degradación de permetrina en comparación de la cipermetrina, a pesar de esta diferencia los resultados demuestran que estas bacterias pueden usarse en aplicaciones de biodegradación de plaguicidas piretroides de forma individual o en consorcio.

### III. Marco teórico.

#### 3.1 Microorganismos

Los microorganismos se caracterizan por presentar un reducido tamaño (micras a milímetros), así como por su diversidad y versatilidad, en cuanto a su clasificación, los microorganismos pueden subdividirse en virus, bacterias, hongos, parásitos, protozoos y algas microscópicas (Tortora *et al.*, 2007; Murray *et al.*, 2014). Estos, se pueden diferenciar por poseer diferentes estructuras, funcionalidad, al igual que por su variación en el tamaño celular, en la morfología, por su forma de reproducción o división celular, e incluso por la capacidad de adaptación al ambiente y sus características metabólicas (Cavalier, 2004), gracias a la amplia gama de características morfo fisiológicas, ha permitido que los microorganismos colonicen diversos ecosistemas, en los cuales han logrado establecerse y enfrentarse a las condiciones que los rodean para sobrevivir. Un ejemplo claro, podemos hablar del ecosistema del suelo, el cual es un hábitat que alberga un sin fin de microorganismos, en los cuales podemos mencionar a los protozoarios, cianobacterias, hongos y bacterias, de los cuales, cabe mencionar que se han descrito alrededor 30,800 especies de protozoarios, 70,000 de hongos y 45,000 de bacterias, aunque se pronostican hasta 2 millones de especies de hongos y de tres a diez millones de especies bacterianas y se estima que en el suelo existen miles de especies en poblaciones de 100 a 2,000 millones de individuos por gramo de suelo, con hasta 35,000 especies de bacterias y 1,500,000 de hongos, aunque sólo se han identificado entre un 8 % y un 1 %, respectivamente (Paul, 2007).

Lo anterior, nos sugiere que dentro de cada ecosistema (suelo, agua y aire) albergan una elevada diversidad microbiana, en donde estos continuamente están aportando una gran cantidad de beneficios a los ecosistemas (Wall y Virginia, 2000). Los microorganismos tienen una gran importancia en diversas actividades antropogénicas como: la industria alimentaria, industria bioquímica, medicina, síntesis de productos químicos, entre otros (Tortora *et al.*, 2007; Murray *et al.*, 2014). Es importante mencionar que tienen la capacidad de degradar diversas

sustancias, entre estas los compuestos orgánicos como hidrocarburos, plaguicidas, compuestos clorados y aromáticos, que son de los más estudiados a nivel laboratorio, y en esta degradación pueden influir diversos factores abióticos (pH, temperatura y humedad entre los más importantes) y bióticos (la composición, la adaptabilidad y capacidad fisiológica de las poblaciones microbianas) (Boopathy, 2000).

### **3.2 Las bacterias**

Murray y colaboradores (2014), mencionan que las bacterias “son microorganismos procariotas unicelulares, sin membrana nuclear, mitocondrias, aparato de Golgi, ni retículo endoplasmático que se reproducen por división asexual. Con una pared celular compleja con dos formas básicas: una pared celular Gram positiva con una gruesa capa de peptidoglucano y una pared celular Gram negativa con una delgada capa de peptidoglucano, así como una membrana externa. Algunas bacterias carecen de pared celular y compensan su ausencia sobreviviendo tan solo en el interior de células del hospedador o en un ambiente hipertónico”. Pueden tener un tamaño entre 1 a 20  $\mu\text{m}$  o más, presentan múltiples formas (esferas, bastoncillos, espirales) y cierta disposición espacial (células aisladas, en cadenas o formando cúmulos). Cabe mencionar que para su clasificación definitiva, es necesario tomar en cuenta sus propiedades fenotípicas y genotípicas.

#### **3.2.1 Rol de las bacterias en la agricultura**

Las bacterias son de los microorganismos más versátiles que hay, puesto que intervienen en una amplia gama de procesos, por ejemplo, en la agricultura tienen diversas funciones que están relacionadas con la fijación de nutrientes, fertilización del suelo, degradación de la materia orgánica, degradación de contaminantes entre otras. Tal es el caso de bacterias del género *Burkholderia*, que tiene la capacidad para fijar nitrógeno, contribuir en la promoción del crecimiento de las plantas, realizar control biológico y biorremediación (Salles *et al.*, 2006); también podemos hacer mención, de bacterias capaces de servir como

inóculos en el compostaje de residuos orgánicos fibrosos con capacidad celulolítica, como menciona Guzmán y colaboradores (2015), que trabajaron con este tipo de bacterias extrayéndolas de 5 ambientes de muestreo (cultivos con agricultura orgánica, agricultura convencional, bosque, área cañera y pilas de compost), para el aislamiento se seleccionaron bacilos Gram positivos, con presencia de endosporas, catalasa positiva y que se desarrollaron en condiciones de aerobiosis, utilizando un agar nutriente modificando la fuente de carbono por celulosa.

Algunas otras bacterias (*Serratia fonticola*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus vallismortis* y *Bacillus cereus*) además de ser capaces de degradar algunos contaminantes y fungir como organismos para posibles aplicaciones de remediación, pueden elevar el pH de algunos suelos y sus metabolitos pueden servir como fertilizantes (Castillo *et al.*, 2016).

En cuanto a efectos de fertilización en las plantas, existen bacterias que presentan este tipo de funciones, tal es el caso de *Rahnella aquatilis*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas fluorescens* y *Pseudomonas putida*, que se utilizaron como fosfodisubilizantes para fines de crecimiento del cultivo del arroz, absorción de nutrientes, aumento del pH y rendimiento (Bakhshandeh *et al.*, 2015).

Un ejemplo más de la versatilidad de las bacterias para desempeñar muchas funciones en la agricultura es *P. fluorescens*, puesto que es muy utilizada en diversos cultivos colonizando sus raíces para promover el crecimiento y prevenir el establecimiento de patógenos, así mismo contribuye en la absorción de agua y diversos nutrientes (Pérez *et al.*, 2015).

### **3.2.2 Procesos de resistencia adaptativa en las bacterias**

Muchas bacterias sintetizan una pared celular que se encuentra fuera de la membrana celular, esta pared fuerte y elástica tiene la capacidad de contrarrestar la presión osmótica, y sirve como protectora contra los daños físicos, químicos y

amenazas biológica, además de estar compuestas de un polímero de peptidoglicano (Höltje, 1998; Vollmer *et al.*, 2008), esto les confiere a las bacterias una ventaja de adaptación a diferentes entornos ambientales cuando modifican su pared celular y los D-aminoácidos de las bacterias están estrechamente relacionadas con la adaptación de su pared celular (Tortora *et al.*, 2007).

En cuanto al metabolismo de las bacterias, es tan eficiente que les permite sobrevivir en condiciones mínimas para el crecimiento, necesitando una fuente de carbono y nitrógeno, una fuente de energía, agua y diversos iones. Aunado a esto existen diferentes tipos de bacterias que con base en sus requerimientos metabólicos pueden sintetizar ciertos componentes, tal es el caso de las bacterias litótrofas (dependen de sustancias químicas inorgánicas y de una fuente de carbono para producir energía) y organótrofas (requieren fuentes de carbono orgánico para producir energía) (Murray *et al.*, 2014).

Cuando las bacterias son expuestas a diferentes fuentes de carbono, prefieren aquellos carbohidratos que son más fáciles de degradar y que les proporcionan los mejores rendimientos para su crecimiento y desarrollo. El mecanismo de control global que regula y coordina la utilización de fuentes de carbono de manera sistemática y organizada se denomina represión catabólica por carbono (RCC) (Saier y Reizer, 1992). Se sabe que este mecanismo puede operar a distintos niveles (transcripción, procesamiento de ARN, traducción y modificación de proteínas), generando respuestas que afectan directa o indirectamente la actividad de las enzimas sensibles al fenómeno (exclusión de inductores, represión transcripcional o interrupción de la traducción de proteínas) (Kwakman y Postma, 1994).

El papel de las bacterias en la biodegradación y transformación de los plaguicidas en el suelo es variable y depende de la disponibilidad, movilidad y toxicidad del plaguicida, las propiedades fisicoquímicas del suelo y del plaguicida, entre otros factores ambientales (Racke y Coats, 1990).

Entre los grupos microbianos reportados como organismos degradadores de plaguicidas, muchas de las bacterias heterótrofas señaladas los utilizan como sustratos, ya sea metabolizando las moléculas o usándolas como nutrientes y fuente de energía. Este grupo de bacterias incluyen a *Azotobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Agrobacterium* spp., *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Flavobacterium* spp., entre otros (Madigan *et al.*, 2004).

Indudablemente los organismos autóctonos tienen ventaja sobre los organismos introducidos debido a que su acción es más efectiva, ya que no necesitan adaptarse a las condiciones de clima, humedad y poblaciones de microorganismos que se encuentran en la zona donde se les utiliza (Lan *et al.*, 2013).

### **3.3 Plaguicidas**

La FAO y OMS (2015), definen a los plaguicidas como: “cualquier sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, durante la producción, almacenamiento, transporte, distribución y elaboración de alimentos, productos agrícolas o alimentos para animales, o que pueda administrarse a los animales para combatir ectoparásitos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladores del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o inhibidores de la germinación, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte”.

Los plaguicidas se pueden clasificar con base en su naturaleza orgánica (sintéticos o naturales) o inorgánica, de igual forma se pueden clasificar por la acción específica sobre el tipo de plaga sobre la que tienen incidencia (insecticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, raticidas, etc.), en función de la estructura química del compuesto utilizado (organoclorados, organofosforados, carbamatos, los ácidos carboxílicos, los piretroides, las amidas, las anilinas, los

derivados alquil de urea, los compuestos heterocíclicos con nitrógeno, los fenoles, las imidas, los compuestos inorgánicos, entre otros), por el grado de peligrosidad que representan (extremadamente peligroso, muy peligroso, moderadamente peligroso y ligeramente peligroso), entre otros (OMS, 1992; Vega, 1985).

### **3.3.1 Efectos de los plaguicidas**

Los agricultores en E.U.A invierten cada año alrededor de 40 billones de dólares en plaguicidas, ahorrando de esta forma en pérdidas por plagas alrededor de 16 billones de dólares, sin embargo es importante tomar en cuenta el daño al ambiente y a la salud pública (Pimentel y Lehman, 1993; Altieri y Nicholls, 2000). Es por ello que es necesario balancear el costo indirecto de las consecuencias mencionadas con el beneficio a obtener.

Otras de las consecuencias ocasionadas por el uso indiscriminado de pesticidas en sistemas de producción intensivos inciden directamente en las poblaciones de microorganismos nativos de interés biológico. La retención en las partículas del suelo con plaguicidas que pueden ser agresivos, puede afectar a microorganismos benéficos disminuyendo sus efectos de biofertilización y los beneficios bioquímicos con los que ayudan a promover el crecimiento de las plantas (Paoletti, 1999). Así mismo los plaguicidas causan limitantes en el suelo como salinización y alcalización (Pimentel y Lehman, 1993).

Los insecticidas al usarse en grandes cantidades y de forma incorrecta afectan también a los depredadores naturales y no solo a las plagas. La muerte de los depredadores naturales dispara el crecimiento y propagación de algunas plagas que estaban bajo el control de estos. Alrededor del año 1988, un total de 1600 especies de insectos considerados plaga, ya habían desarrollado resistencia a uno o más insecticidas. Es importante destacar que los insectos denominados plagas pueden generar resistencia a los plaguicidas en aproximadamente 5 años, mientras que sus depredadores requieren un tiempo mucho más prolongado (Smith y Smith 2007).

En cuanto a algunas de las repercusiones a la salud pública por el consumo y manipulación inadecuada de los plaguicidas químicos pueden presentarse en efectos agudos: vómitos, abortos, cefaleas, somnolencia, alteraciones en el comportamiento, convulsiones e inclusive la muerte; estos efectos se dan a causa de una exposición instantánea y accidental a concentraciones altas de pesticidas. En cuanto a los efectos crónicos, ocasionados por exposición prolongada durante un periodo largo de tiempo se pueden desarrollar enfermedades como cáncer, malformaciones congénitas, neuropatías periféricas, entre otras (Potti *et al.*, 2003; Martínez y Gómez, 2007).

Los plaguicidas se movilizan a través del aire, cuerpos de agua contaminados, escorrentía y lixiviación; lo cual causa contaminación ambiental, localizada en muchos hábitats naturales, esta contaminación se hace presente en suelo, agua, flora y fauna. La contaminación de los plaguicidas está relacionada directamente con fumigaciones agrícolas, descargas domésticas y de industrias relacionadas con su fabricación. Muchos plaguicidas no se degradan fácilmente por su estructura química, lo que los hace bioacumularse en las cadenas alimenticias, aunado a esto algunos alimentos han llegado a estar contaminados por que en su producción tienen contacto con plaguicidas; algunos alimentos en los que alguna vez se han encontrado con contaminación de estas sustancias en diferentes concentraciones son la leche, diferentes frutas, vegetales y harina de pescado (Choudhary *et al.*, 2018; Vorley y Keeney, 1998; Munshi *et al.*, 2004).

En México en el estado de Sinaloa considerado corazón agrícola, el uso de plaguicidas químicos sustenta la actividad agrícola lo que ha generado problemas de contaminación en el suelo, agua, aire, biota y sedimentos. Esta contaminación se presentó por la aplicación de plaguicidas, a través de su escorrentía, infiltraciones y descargas en diversos cuerpos de agua. Algunos medios de contaminación por medio de dilución de los contaminantes fueron a través de drenes, riego y lluvia, es por ello que el mal manejo de los plaguicidas presenta

amenazas en ecosistemas terrestres y marinos. Para reducir estas consecuencias por lo menos es necesario apearse a las reglamentaciones pertinentes, seguir las indicaciones de uso y utilizar las dosificaciones adecuadas para la aplicación de los productos e ingredientes activos de los plaguicidas, puesto que han existido aplicaciones de volúmenes altos de plaguicidas en esta área agrícola (2, 464 000 t) y como ya se ha mencionado su toxicidad y persistencia de los plaguicidas puede ser alta (García y Rodríguez, 2012).

Torres y Capote (2004) hacen hincapié en la necesidad de determinar la presencia de los diferentes plaguicidas en el ambiente y realizar un programa de seguimiento para analizar los diferentes lugares en donde se realizan aplicaciones. Aunada a esta recomendación se debería hacer la biorremediación de los suelos para que sean áreas seguras para los cultivos.

### **3.3.2 Carbofuran**

El Carbofuran (2,3-dihidro-2,2-dimetil-7-benzofuranil-metilcarbamato) es un pesticida organocarbamato comúnmente conocido como Furadan, con un efecto insecticida, acaricida y nematocida por contacto e ingestión y bajo efecto residual. Se utiliza ampliamente para la producción de alimentos en diferente tipo de cultivos y en algunas ocasiones es utilizado en los hogares para combatir plagas no deseadas (Chapalamadugu y Chaudhry, 1992; Gera *et al.*, 2009; Agrawal y Sharma, 2010). Puesto que es ampliamente utilizado se ha encontrado contaminación por este plaguicida en el suelo, aguas superficiales, alimentos y fauna silvestre (Dobšiková, 2003).

Entre los efectos por contaminación de Carbofuran en el ambiente existen repercusiones negativas en la biota (Sarkar *et al.*, 2005) como intoxicación en la fauna (Laetz *et al.*, 2009), así mismo en los humanos puede existir intoxicación alta, afectando principalmente y severamente al cerebro, hígado, corazón, riñón y músculos) (Kaur y Sandhir, 2006; Jaiswal *et al.*, 2013). Existe una estrecha correlación entre la toxicidad del Carbofuran y las siguientes variables; duración,

frecuencia, intensidad de exposición, formulación y la susceptibilidad del organismo evaluado, siendo este último influenciado por la edad, sexo y variación genética (Iannacone y Tejada, 2007).

En Perú, el Carbofuran está dentro de los cuatro plaguicidas más utilizados en la agricultura para el control de plagas, sin embargo es considerado altamente tóxico, siendo uno de los biosidas que ha contribuido mayormente en la intoxicación de muchas personas (Tazza, 2005).

En cuanto a microorganismos, existen bacterias con capacidad de degradar Carbofuran, no obstante muchas veces en la hidrólisis del carbamato no se realiza la descomposición del metabolito fenólico resultante, por lo que es importante seleccionar la cepa bacteriana correcta para realizar su degradación (Oanh *et al.*, 2014).

### **3.3.3 Esteron 47**

El Esteron 47 es un herbicida selectivo de malezas de hojas anchas anuales y perennes, generalmente usado en cereales y caña de azúcar. Este plaguicida tiene como ingrediente activo el 2,4-D el cual se encuentra incluido en el compuesto éster butílico del ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (DOW, 2017).

Los herbicidas con 2,4-D son ampliamente utilizados a nivel mundial para el control de malezas, sin embargo causa contaminación de los recursos naturales como el suelo, en el cual la degradación de este herbicida es muy variable, dependiendo de múltiples factores ambientales y del tipo de suelo, lo que puede llevar a que su persistencia sea de varios meses (Boivin *et al.*, 2005; Nascimento y Yamashita, 2009).

En la población este herbicida puede causar irritación gastrointestinal, en ojos, piel y vías respiratorias, además puede causar efectos en los músculos, hígado, el riñón y el cerebro (causando cambios de conducta), y es potencialmente

cancerígeno. En intoxicaciones agudas existe la posibilidad de desarrollar convulsiones, fibrilación ventricular y muerte. (DOW, 2017; Tamburro, 1992; Flanagan *et al.*, 1990).

### **3.3.4 Malation 1000**

El Malation es un organofosforado que tiene como compuesto activo el 0,0-dimetil fosforoditioato de etil mercapto succinato, el cual es un insecticida y acaricida de efecto por contacto, inhalación e ingestión (Anajalsa, 2016; Hamed, 2015).

Su efecto no está limitado a las especies de insectos para las cuales está indicado, afectando otras especies, un ejemplo son algunos estudios donde se reporta que el Malation al contaminar el agua, esta se vuelve tóxica para las tilapias y el plancton, además se ha reportado su acumulación en moluscos. En cuanto al plancton, el Malation resulta ser más tóxico en comparación con otros plaguicidas como cipermetrina y glifosato (Garza *et al.*, 2017; Hamed, 2015; Bravo *et al.*, 2014).

En los efectos a la salud se ha reportado que afecta principalmente a la acetilcolinesterasa (AChE) llegando a causar una crisis colinérgica, afectando a el corazón, pulmones y los riñones. Algunos efectos agudos incluyen nauseas, vomito, irritación y diarrea (Bonilla *et al.*, 2008; Sarkar *et al.*, 2000; Possamai *et al.*, 2007; Calidad tridente, 2017).

Cabe resaltar que el compuesto del Malation tiene periodo de vida corto en el ambiente, sin embargo al oxidarse a enzimas de malaxon de citocromo P450 (malaoxon by cytochrome P450 enzymes) se vuelve más tóxico que el compuesto inicial (Bonilla *et al.*, 2008).

### **3.3.5 Marco legislativo de los plaguicidas**

Internacionalmente existen algunos plaguicidas que se encuentran restringidos gracias a los acuerdos tomados en el convenio de Estocolmo, convenio de

Róterdam y el convenio de Montreal. El Furadan (Carbofuran) es un plaguicida que es restringido en los países que participan en las Conferencias de Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, por su compuesto activo Carbofuran que es altamente tóxico, sin embargo este plaguicida se vende en México sin restricciones (Utz, 2015).

El Malation 1000 se encuentra en las listas de vigilancia por su ingrediente activo, el cual es tóxico para el ambiente, siendo altamente tóxico para las abejas, estas listas están avaladas por la PAP (Plaguicidas Altamente Peligrosos) y la RAP (Red de Acción en Plaguicidas) (Utz, 2015).

En México existe legislación pertinente a los plaguicidas, que describe la forma en que se deben de usar, envasar, transportar, importar, desechar, etc. No obstante en la mayoría de los casos los agricultores desconocen esta legislación, que podría evitar intoxicaciones y muertes, así como contaminación de alimentos y el ambiente.

En México se regula el uso de plaguicidas por medio de leyes como la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LEGEEPA), en la que menciona algunos señalamientos relacionados con el correcto uso y comercio de los plaguicidas, algunos artículos son los siguientes: Artículo 120 establece que estará regulado por las entidades federales o locales el evitar la contaminación en los cuerpos de agua; Artículo 134 menciona que están encargados el estado y la sociedad de la prevención de contaminación del suelo, usando los agroquímicos de forma que no se dañe el equilibrio del ecosistema y considerando los efectos a la salud humana, así mismo se deben de remediar los lugares contaminados con compuestos o residuos peligrosos; de igual forma el Artículo 136 aborda la prevención de contaminación del suelo otorgando autorización a las personas que fabrican, importan o utilizan agroquímicos (DOF, 2012).

El Artículo 143 menciona que los agroquímicos quedan sujetos sus respectivas NOM, y el Artículo 144 prohíbe la importación de agroquímicos si están prohibidos en el país de fabricación (DOF, 2012).

En México existen normas que regular una vasta cantidad de actividades y para el proceso de empaqueo de los plaguicidas existe la NOM-232-SSA1-2009, Plaguicidas: que establece los requisitos del envase, embalaje y etiquetado de productos grado técnico y para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico. Esta norma tiene el propósito de disminuir los riesgos por uso, como intoxicación de quienes manejan las sustancias, así como para evitar la contaminación de los alimentos y el medio ambiente; esto se pretende por medio de la información del etiquetado que explica los posibles peligros y su correcto uso, y de un envase que pueda almacenar el contenido sin riesgos de exposición o derramamiento (SSA, 2010).

La NOM-256-SSA1-2012, Condiciones sanitarias que deben cumplir los establecimientos y personal dedicados a los servicios urbanos de control de plagas mediante plaguicidas. Menciona los señalamientos, requerimiento y condiciones para que los servicios de control de plagas se lleven a cabo de manera óptima para minimizar riesgo a la población y a los trabajadores, así como para reducir la contaminación ambiental (SSA, 2012).

### **3.4 El agroecosistema**

Los agroecosistemas son sistemas antropogénicos, donde el hombre ha transformado la naturaleza para obtener principalmente alimentos. La interacción entre el hombre y la agricultura a lo largo de los años ha permitido un notable acoplamiento entre las prácticas agrícolas y los ecosistemas seminaturales. Por el contrario el modelo de producción industrial originado desde la revolución verde, causó una desestabilización entre la agricultura, la cultura rural y el entorno físico; Es aquí donde aparece la causa de la crisis de la agricultura moderna y el abandono de numerosos espacios rurales (Sans, 2007).

Los agroecosistemas también se pueden considerar como un sistema que resulta de la interacción de factores ambientales de seres bióticos y abióticos, en donde actúa el hombre integrando sus interacciones sociales y los mecanismos económicos (Hernández, 1987).

Análogamente en cuanto a los agroecosistemas Altieri (1999), explica que en la idealización de los agroecosistemas estos son una acumulación de componentes abióticos y bióticos que pueden combinarse para formar una unidad de funcionamiento ecológico. Aunado a esto presentan una serie de características entre las cuales destacan el que se pueden establecer de manera tal que sean capaces de autorregularse dentro de límites definidos; que varían de acuerdo a la naturaleza de sus componentes, a su ensamblaje en el tiempo, el espacio y a nivel de intervención humana; ningún agroecosistema es una unidad completamente independiente y pueden ser de cualquier escala biogeográfica.

Desde el punto de vista de Gliessman (2002) el agroecosistema es cualquier sitio de producción agrícola desde la perspectiva de un ecosistema, analizando la totalidad de sus dimensiones del sistema de producción de alimentos y poniendo gran énfasis en las entradas y salidas del agroecosistema.

El manejo sostenible de un agroecosistema debe tener especial preferencia por el reciclaje de nutriente (promoviendo los procesos naturales), uso de fuentes renovables de energía, dejar de usar agroquímicos tóxicos tanto para el ecosistema como para la sociedad, usar materiales de origen natural al agregarlos al sistema, manejar las plagas en vez de controlarlas, restablecer y/o mantener las relaciones biológicas, que los modelos de cultivo estén en armonía con las cualidades de agroecosistema sin sobrepasar su potencial productivo, usar estrategias de adaptación biológica y genética de las especies a las condiciones del agroecosistema y no al contrario, poner más atención a la salud del agroecosistema que al producto de un sistema de cultivo, enfatizar la

conservación de suelo, agua, energía y recursos biológicos, e incorporar la sostenibilidad a largo plazo pensando en la comunidad y la sociedad (Gliessman *et al.*, 2007).

### **3.5 Prácticas agroecológicas**

Las prácticas agroecológicas comprenden un conjunto de acciones técnicas que se caracterizan por aprovechar los recursos naturales de forma sustentable, con un objetivo social benefactor encaminado a producir suficiente en cantidad y calidad, buscando que sea económicamente factible (Ramírez, 2005).

Existen muchas prácticas agroecológicas encaminadas a la disminución de insumos y la contaminación, y al mejoramiento de la calidad del agroecosistema, algunas de estas prácticas son la diversificación de los hábitats mediante las rotaciones, los policultivos, los cultivos de cobertura, uso de semillas nativas, el mantenimiento de la vegetación de los márgenes, la fertilización orgánica y los laboreos superficiales. Estos tres últimos se asocian con un incremento de la biodiversidad (Sans, 2007). Es importante mantener en buenas condiciones el suelo y permitir el desarrollo de la vida en este, puesto que en la gestión de la fertilidad del suelo, la materia orgánica y en los procesos biológicos del suelo intervienen microorganismos (bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadores de fósforo y hongos micorrízicos) y otros organismos que son especialmente relevantes para que exista buena disponibilidad de materia orgánica (Van Camp *et al.*, 2004).

Otro aspecto esencial en las prácticas agroecológicas es el control de plagas, el cual se puede gestionar con el manejo integrado de plagas, en el que el objetivo no solo está orientado hacia la plaga, si no que considera al agroecosistema en su conjunto. Se centra en mantener un sistema saludable en el que todas las partes funcionen y en el que las plagas puedan ser toleradas hasta cierto grado (Hansen, 1990).

### **3.6 Espectroscopia UV-Vis**

“La espectroscopia UV-Vis es una técnica de análisis de compuestos en la que se mide la luz absorbida por las moléculas al promocionar el electrón de un estado basal a un estado electrónico excitado. La luz absorbida está dentro de la zona UV-Vis (180-800 nm)”. No todas las sustancias se pueden analizar con esta técnica, dado que solo algunas absorben la radiación en la longitud de onda antes mencionado (Rodríguez y García, 2006).

Algunas sustancias detectadas con esta técnica son: compuestos carboxílicos, aromáticos, iones complejo, etc. Para que las sustancias sean detectadas deben tener en su estructura química un grupo cromóforo, el cual contiene un conjunto de átomos con dobles o triples enlaces (Rodríguez y García, 2006; Shah *et al.*, 2015).

Es importante seleccionar una velocidad de escaneo adecuada y un intervalo de muestreo adecuado en cuanto a la longitud de onda, ya que de acuerdo con la intensidad de cada una de estas variables será la calidad del espectro de la sustancia a determinar. Un espectro poco detallado puede ser resultado de una velocidad de escaneo rápida y un amplio intervalo de análisis de la longitud de onda. Por el contrario, para obtener un espectro con un buen nivel de detalle es recomendado que la velocidad de escaneo tienda a la lentitud y un intervalo de muestreo de longitud de onda no tan amplio, esto dará un espectro más limpio y fácil de interpretar (Cazar, 2011; Bouzidi y Gozzi, 2008).

### **3.7 Biodegradación**

La biorremediación hace uso de sistemas biológicos como bacterias, hongos, protozoarios o algas; para transformar, remover o degradar los contaminantes a compuestos inocuos o con la menor toxicidad posible, y los compuestos complejos se tienden a mineralizar. Transformando de esta forma a los contaminantes en agua, gases simples como el CO<sub>2</sub> o sustancia inorgánica y biomasa (La Grega *et al.*, 2002; Gusse *et al.*, 2006; Fernández *et al.*, 2009).

El término biorremediación es utilizado comúnmente para referirse a la degradación de contaminantes por acción microbiana o de sus enzimas, mientras que para el control de la contaminación por acción de las plantas se le denomina fitorremediación (Quintero, 2011). Gracias a las enzimas que producen los microorganismos, se les llaman catalizadores de la descomposición de los contaminantes ambientales (Atlas y Unterman, 1998). El proceso de biodegradación puede durar desde unas cuantas horas hasta algunos años, lo cual se encuentra principalmente en función de la estructura química del compuesto (Jones *et al.*, 2008; Bautista *et al.*, 2015).

En cuanto a degradación los compuestos o contaminantes se pueden dividir en biodegradables, refiriéndose a las que tienen alto grado de degradación microbiana en condiciones ambientales, descomponiéndose a sustancias más simples por medio de transformaciones químicas y las recalcitrantes a las que se degradan en periodos largos de tiempo, permaneciendo en el ambiente incluso décadas (Bautista *et al.*, 2015; Vasdev, 2011).

### **3.7.1 Biodegradación bacteriana**

Es muy frecuente hacer uso de bacterias para realizar la degradación de contaminantes y diferentes compuestos, ya que las bacterias presentan muchas ventajas frente a otros microorganismos indicados para la degradación de algunos contaminantes. Las bacterias tienen un rápido crecimiento y son fáciles de cultivar, pueden generar enzimas eficaces, tienen diversas rutas metabólicas y son muy versátiles al momento de adaptarse a diferentes sustratos y fuentes de carbono, incluso se pueden adaptar al contaminante y ciertas condiciones ambientales, aunado a ello las bacterias también se pueden manipular genéticamente para que puedan degradar ciertas sustancias (Furukawa, 2003; Prakash e Irfan, 2011; Vasdev, 2011; El-Sheekh *et al.*, 2012; Quintero, 2011).

Las bacterias al hacer uso de toda la gama de características mencionadas anteriormente tienen la capacidad de degradar una gran diversidad de sustancias orgánicas e inorgánicas, realizan la quelación de los metales, y aunado a ello pueden hacer biorremediación en suelo y agua (Lee *et al.*, 2012; Kamika y Momba, 2013; Alarcón y Ferrera, 2013).

## IV. Justificación

Como es bien conocido los contaminantes traen diversas problemáticas al medio ambiente y a la agricultura como es el caso de los pesticidas, los cuales al utilizarse indiscriminadamente contaminan el ambiente causando problemáticas como pérdida de fertilidad y erosión del suelo, salinización y alcalinización, polución de los sistemas de aguas, pérdida de agrobiodiversidad, eliminación de enemigos naturales, generación de inmunidad de las plagas, costos ambientales (impacto sobre la vida silvestre, polinizadores, peces, calidad de agua, entre otros) y el costo social (envenenamiento de trabajadores y población que radica cerca) (Pimentel y Lehman, 1993). Así mismo los plaguicidas causan diversos efectos sobre la microbiota del suelo, afectando las poblaciones de los microorganismos de interés biológico como algunas bacterias que se ven afectadas en sus funciones bioquímicas disminuyendo su efecto de fertilización y su colaboración en el crecimiento de la planta (Paoletti, 1999).

Es importante garantizar la inocuidad alimentaria, para salvaguardar la salud de las personas y cuidar el balance de un agroecosistema. Por tal motivo, es pertinente estudiar los diferentes mecanismos adaptativos, de las bacterias nativas del suelo, que permita considerarlos para su aplicación en prácticas agroecológicas.

## **V. Objetivos**

### **5.1 Objetivo general**

Evaluar la capacidad metabólica-adaptativa en aislamientos bacterianos del suelo con aplicación en prácticas agroecológicas.

### **5.2 Objetivos particulares**

5.2.1 Aislar e identificar bacterias a partir de muestras de suelos en sistemas agrícolas.

5.2.2 Caracterizar la actividad metabólica en diversos sustratos y formación de biopelícula de los aislamientos bacterianos.

5.2.3 Evaluar la viabilidad de los aislamientos bacterianos en presencia de 2,4-D, Malation y Carbofuran.

5.2.4 Evaluar al consorcio bacteriano para la degradación de los plaguicidas en condiciones controladas.

5.2.5 Determinar los mecanismos adaptativos de los aislamientos bacterianos con potencial de aplicación en prácticas agroecológicas.

5.2.6 Asociación entre la capacidad metabólica-adaptativa del consorcio bacteriano con prácticas agroecológicas.

## **VI. Hipótesis.**

Los mecanismos metabólicos de las bacterias tienen un papel importante en su capacidad de adaptación al ambiente, por lo tanto se podrán considerar estas funciones metabólicas en prácticas agroecológicas.

## VII. Metodología.

### 7.1 Material biológico

Los aislamientos que se utilizaron en el presente estudio fueron obtenidos de muestras de suelo, las cuales fueron tomadas de parcelas con uso agrícola ubicadas en Vicente Guerrero del municipio de Españita, Tlaxcala, Chachapa en el estado de Puebla y en Los Mochis, perteneciente al municipio de Ahome-Sinaloa, México (Tabla 1). Las muestras fueron de 18 parcelas de sistemas agroecológicos y convencionales distribuidas entre las poblaciones ya mencionadas, las muestras obtenidas fueron extraídas bajo el siguiente esquema: se tomaron en cada parcela 10 submuestras en zig-zag, para obtener una muestra compuesta de 2 Kg de suelo; el muestreo se realizó de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000, en la cual se indica que la toma de muestra para suelos agrícolas debe ser de 0-15 cm de profundidad.

**Tabla 1. Relación de muestras analizadas en el proyecto.**

No. Muestra	Cultivo	Lugar	Coordenada
1	Monocultivo de papa	Mochis, Sinaloa	25°81'74'' N, 109°05'24'' O
2	Monocultivo de papa	Mochis, Sinaloa	25°85'76'' N, 109°00'32'' O
3	Monocultivo de calabaza	Mochis, Sinaloa	25°84'06'' N, 108°97'97'' O
4	Monocultivo de papa	Mochis, Sinaloa	25°82'62'' N, 108°95'05'' O
5	Monocultivo de frijol	Mochis, Sinaloa	25°84'85'' N, 108°96'58'' O
6	Monocultivo de frijol	Mochis, Sinaloa	26°18'01'' N, 108°76'22'' O
7	Monocultivo de maíz	Mochis, Sinaloa	25°85'05'' N, 108°96'96'' O
8	Monocultivo de maíz	Mochis, Sinaloa	25°84'95'' N, 108°96'79'' O
9	Monocultivo de maíz en rotación con haba	Vicente Guerrero, Tlaxcala	19°24'55'' N, 98°29'31'' O
10	Policultivo de maíz,	Vicente Guerrero,	19°25'24'' N,

	calabaza, haba y frijol (enredadera y mata)	Tlaxcala	98°28'56" O
11	Policultivo de maíz, frijol, calabaza, haba, tomate y chícharo	Vicente Guerrero, Tlaxcala	19°25'38" N, 98°29'14" O
12	Monocultivo de tomate	Vicente Guerrero, Tlaxcala	19°25'37" N, 98°29'46" O
13	Policultivo de maíz, frijol, avena y calabaza	Vicente Guerrero, Tlaxcala	19°25'34" N, 98°29'40" O
14	Monocultivo de maíz	Chachapa, Puebla	19°04'29" N, 98°05'09" O
15	Monocultivo de maíz	Chachapa, Puebla	19°04'26" N, 98°05'17" O
16	Monocultivo de maíz	Chachapa, Puebla	19°04'20" N, 98°05'12" O
17	Monocultivo de maíz	Chachapa, Puebla	19°03'50" N, 98°05'29" O
18	Monocultivo de maíz	Chachapa, Puebla	19°02'47" N, 98°05'12" O

## 7.2 Aislamiento bacteriano

Se pesó 1 g de cada muestra de suelo y se resuspendieron en 10 mL de caldo nutritivo; se incubaron a temperatura ambiente y en agitación a 40 revoluciones por minuto (rpm) durante 24 horas. Se sembraron 10 µL por estría en agar nutritivo e incubaron a 30°C durante 24 horas. Posteriormente se seleccionaron y aislaron las colonias que presentaron la mayor viabilidad, y se resguardaron a 4°C para su posterior estudio.

## 7.3 Identificación bacteriana

A partir de cada una de las muestras aisladas se seleccionó una colonia y se dejaron crecer en 2 mL de caldo nutritivo, se incubaron a 30°C durante 24 horas, para agregar 1 mL del cultivo en el medio de identificación Compact Dry "Nissui" EC, el cual se incubó a 30°C durante 24 horas y se realizó la lectura de identificación.

#### **7.4 Ensayos de actividad metabólica**

Asimilación de materia orgánica: las muestras bacterianas aisladas se sembraron por medio de una estría central en el medio CAM (Carbon Assimilation Medium) utilizando como fuente de carbón dextrosa, sacarosa y almidón, incubándose a 30°C durante 24 horas, y se realizó la lectura mediante la presencia o ausencia de crecimiento.

Actividad de proteasas: para evaluar la capacidad de hidrolizar proteínas se utilizó el agar caseína, sembrando cada uno de los aislamientos bacterianos por medio de una estría central gruesa e incubaron a 30°C durante 24 horas. La lectura se realizó analizando la aparición de un halo transparente alrededor del crecimiento bacteriano.

Actividad lipasas: los aislamientos bacterianos se sembraron por medio de una estría central e incubaron a 30°C durante 7 días en el medio agar-glicerol, la lectura se realizó analizando la aparición de un precipitado alrededor del crecimiento bacteriano debido a la combinación del  $\text{Ca}^{2+}$  y los ácidos grasos liberados por la hidrólisis.

Actividad ADNasa: cada uno de los aislamientos se sembró por estría y se incubaron a 30°C durante 24 horas en el medio DNase test agar, la prueba se reveló cubriendo la superficie de la placa con HCl 1N, la prueba es positiva si se forma un halo alrededor del cultivo.

#### **7.5 Evaluación y cuantificación de la formación de biopelícula**

Cada uno de los aislamientos se cultivó en caldo nutritivo para ajustar los inóculos a  $1 \times 10^6$  UFC/mL. A partir de los cultivos de 24 horas, en microplacas se colocaron 200  $\mu\text{L}$  en cada pozo (con 4 repeticiones c/u) y se incubaron 24 horas a 30°C. Posteriormente se eliminó el contenido de la placa, se realizaron tres lavados con agua destilada estéril. Se agregaron 250  $\mu\text{L}$  de cristal violeta al 1 % a cada pozo durante 5 minutos, con el objeto de teñir las bacterias presentes en la biopelícula.

Se procedió a eliminar el exceso de colorante enjuagando con agua destilada, se agregaron 250  $\mu\text{L}$  de etanol al 99 % a cada pozo y se realizó la lectura de la densidad óptica a 620 nm utilizando un lector de placas PoweamWHYM201.

El punto de corte (D.O.C.) y la clasificación de las cepas se definieron de acuerdo a las recomendaciones de Stepanović y colaboradores (2004). El D.O.C. se conformó por el promedio de las densidades ópticas obtenidas en el control negativo más 3 desviaciones estándar. Se consideró como no productora de biopelícula a aquellas cepas con una DO inferior al DOC, cepas productoras débiles a aquellas con una DO superior al DOC e inferior a 2 DOC, moderadas aquellas que presentaron una DO entre 2 DOC y 4 DOC y fuertemente productoras a aquellas que presentaron una DO superior a 4 DOC.

#### **7.6 Ensayos de viabilidad en presencia de plaguicidas**

Los aislamientos fueron confrontados con Esteron 47 (2,4-D al 49.20 %), Malation 1000 (0,0-dimetil fosforoditioato de dietil mercaptosuccinato al 83.60 %) y Furadan (Carbofuran al 33.21 %), para determinar su viabilidad por medio del ensayo en difusión en placa en agar Mueller-Hinton. Se prepararon discos de 5 mm de papel Whatman No. 1 estériles y se impregnaron con soluciones de cada uno de los plaguicidas en concentraciones de 10 %, 50 % y 80 %. Cada uno de los aislamientos se cultivó en caldo nutritivo, ajustando los inóculos a  $1 \times 10^6$  UFC/mL. En placas de agar Mueller-Hinton se realizó la siembra masiva de los cultivos y se colocaron de forma equidistante 3 discos, dos impregnados con el plaguicida y el tercero con el Ciprofloxacino (1 %). Se incubaron las muestras a  $30^\circ\text{C}$  durante 24 horas, la prueba se interpretó evaluando la formación de halos de inhibición alrededor de los discos, y se midió el diámetro de estos.

#### **7.7 Preparación de los inóculos bacterianos**

Se utilizó un consorcio bacteriano compuesto por 5 bacterias provenientes de Los Mochis, Sinaloa (muestras 3, 4, 5, 6 y 8) que presentaron mejor actividad metabólica y resistencia frente a los diferentes plaguicidas. Estas se sembraron

en 1 mL de caldo nutritivo y se dejaron incubar 24 h a 30°C, el cultivo del consorcio bacteriano se vertió en 300 mL de caldo nutritivo, para que creciesen por 24 h a 30°C.

Se prepararon 10 tubos Falcon con 9 mL de caldo nutritivo y se vertió 1 mL del consorcio bacteriano en el primer tubo. A continuación se realizaron 10 diluciones decimales.

De cada uno de los tubos se tomaron 10 µL y se sembraron por estriado en una placa de agar nutritivo para realizar el conteo de UFC/mL.

Posteriormente, de cada tubo se tomaron 4 muestras de 200 µL y se colocaron en microplacas de 96 pozos. Se realizó la lectura de absorbancia a 492 nm en un lector de placas PoweamWHYM201, con la finalidad de ajustar el inóculo bacteriano a una concentración de  $1 \times 10^7$  UFC/mL, y se realizó la correlación de las UFC con respecto a la densidad óptica.

## **7.8 Detección de la descomposición de los plaguicidas por espectroscopia UV-Vis**

Se utilizó un suelo limoso perteneciente a Vicente Guerrero-Tlaxcala con manejo agroecológico, con un pH de 5.6 y materia orgánica 1.24 %, el cual se lavó 3 veces con agua destilada en su peso equivalente, para eliminar impurezas y se colocó en la mufla a 100°C durante 6 h para evaporar el exceso de agua.

Del suelo lavado se pesaron 300 g y se dividieron en 3 fracciones de 100 g, a cada fracción se le agregó un plaguicida en una disolución de 100 mL y una concentración de 100 ppm, siendo los plaguicidas utilizados 2,4-D, Carbofuran y Malation, enseguida se metieron las muestras a la mufla a 100°C.

Posteriormente se hicieron 8 submuestras de 10 g, procesando una muestra cada tercer día durante 17 días. Se pasaron 20 mL de acetona por muestra para extraer

el plaguicida y se analizaron por UV visible haciendo una dilución 1:200 con agua desionizada.

Este procedimiento se repitió con inoculación bacteriana, después de retirar las muestras contaminadas de la mufla, se agregó 1 mL de agar nutritivo inoculado a una concentración de  $1 \times 10^7$  UFC/mL por submuestra (10 g) de suelo.

Se determinaron los espectros UV-Vis en un espectrofotómetro (Lambda 20), con la absorbancia observada en el máximo de cada espectro se calcularon las concentraciones utilizando la curva de calibración de cada plaguicida para comparar su degradación en ausencia y presencia del consorcio bacteriano.

### **7.9 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de los ensayos de viabilidad de los aislamientos bacterianos en presencia de los plaguicidas fueron procesados con el Software Instant 2.0. Se realizó ANOVA de una vía y su respectiva comparación múltiple de Tukey con un nivel de significancia del 0.05.

Para cada plaguicida se realizó su respectivo gráfico de linear Regression on the factor scores (REGR) con base en un análisis de componentes principales, utilizando el programa SPSS.

## VIII. Resultados

Se procesaron las cepas bacterianas provenientes de Los Mochis, Sinaloa, de Vicente Guerrero, Tlaxcala y Chachapa, Puebla

En primer lugar, las muestras se inocularon en caldo nutritivo, para posteriormente sembrarlas en agar nutritivo y agar Mac Conkey.

Para identificar el género de las bacterias previamente aisladas se utilizó la prueba Compact Dry Nissui EC. Esta prueba se interpreta en función del color que se tiñe el agar: de color rojo – rosa indica presencia de coliformes, beige indica *Pseudomonas* y el azul indica *E. coli* (Figura 1 y Tabla 2).

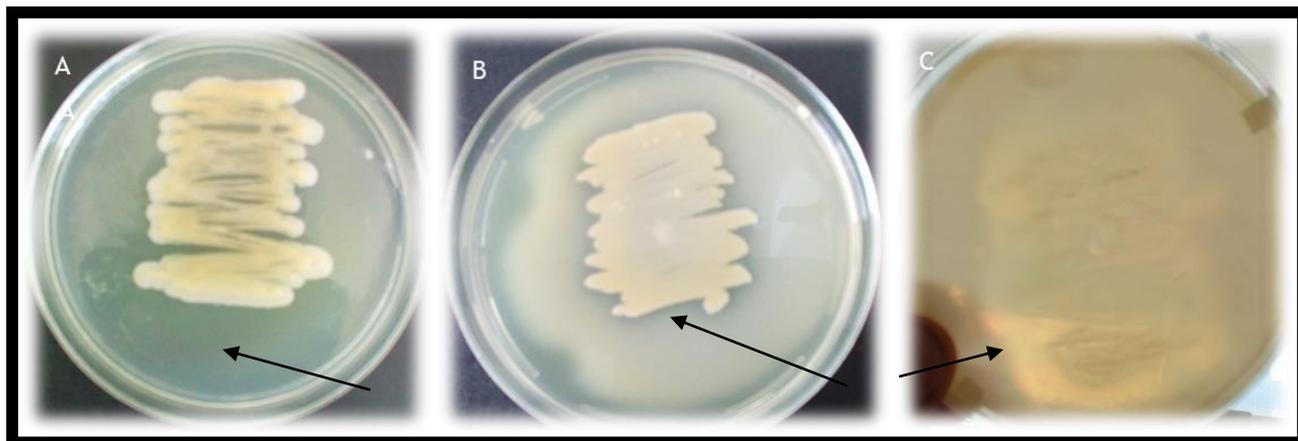


Figura 1. Interpretación de la prueba Compact Dry Nissui EC para la identificación de los aislamientos.

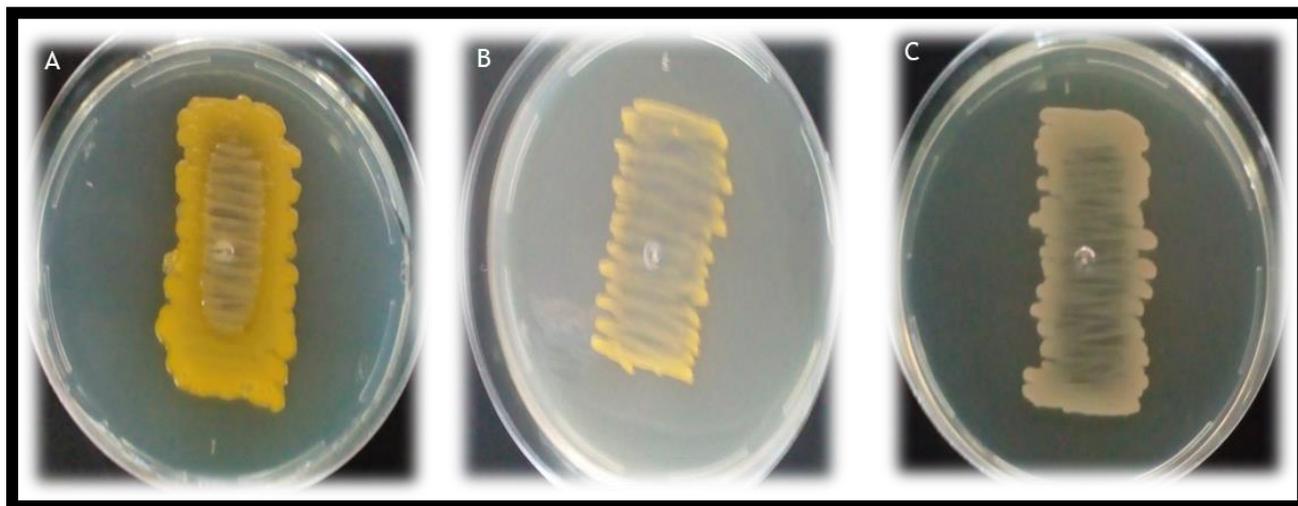
Tabla 2. Relación de la identificación bacteriana

	Mochis, Sinaloa		Vicente Guerrero, Tlaxcala		Chachapa, Puebla	
Muestra	Color	Género	Color	Género	Color	Género
1	Beige	<i>Pseudomonas</i>	Beige	<i>Pseudomonas</i>	Beige	<i>Pseudomonas</i>
2	Beige	<i>Pseudomonas</i>	Beige	<i>Pseudomonas</i>	Beige y rosa	<i>Pseudomonas</i> y coliformes.
3	Beige	<i>Pseudomonas</i>	Beige	<i>Pseudomonas</i>	Beige y rosa	<i>Pseudomonas</i> y coliformes.
4	Rosa	coliformes	Beige	<i>Pseudomonas</i>	Beige y rosa	<i>Pseudomonas</i> y coliformes.
5	Rosa	coliformes	Rosa	coliformes	Beige y rosa	<i>Pseudomonas</i> y coliformes.
6	Beige	<i>Pseudomonas</i>				
7	Beige	<i>Pseudomonas</i>				
8	Rosa	coliformes				

Posteriormente se procesaron los resultados de las diferentes pruebas metabólicas de asimilación de materia orgánica, actividad de proteasas, actividad lipasas y actividad ADNasa (Figuras 2 y 3).

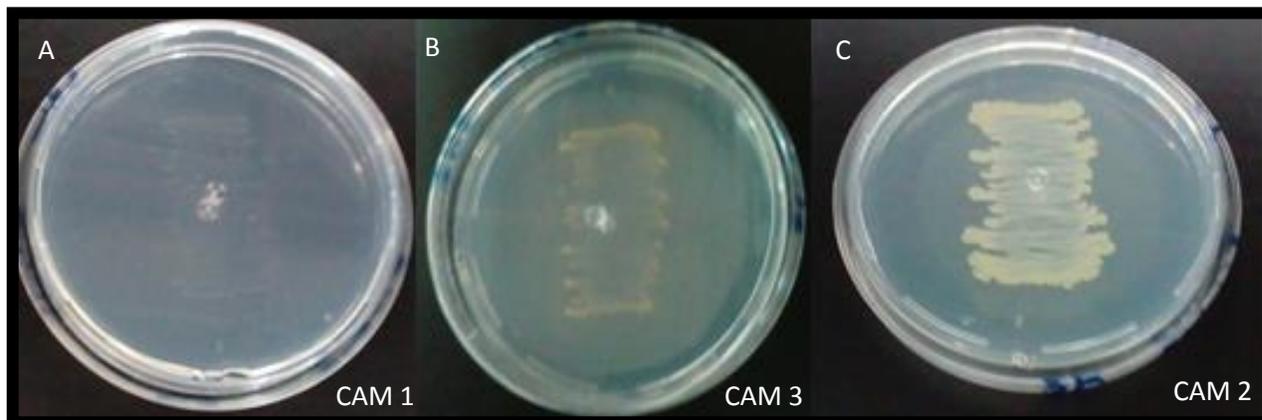


**Figura 2.** Actividad positiva en las diferentes pruebas metabólicas. (A) glicerol con un precipitado alrededor del estriado indicado por la flecha, (B) ADNasa y (C) caseína con un halo transparente alrededor del estriado indicado por la flecha.



**Figura 3.** Actividad negativa en las diferentes pruebas metabólicas. (A) glicerol, (B) ADNasa y (C) caseína.

En cuanto a la prueba de asimilación de materia orgánica, se tomaron como referencia las diferentes intensidades de densidad de crecimiento en los 3 diferentes medios que contenían almidón (CAM 1), sacarosa (CAM 2) y dextrosa (CAM 3) (Figura 4).



**Figura 4.** Diferentes crecimientos bacterianos en los medios CAM. Aislamientos 3 (A y B) y 5 (C) de Vicente Guerrero (A= X, B= XX y C: XXX)

Durante el ensayo de la actividad metabólica, los aislamientos bacterianos de Los Mochis se desarrollaron mejor en presencia de dextrosa y sacarosa, las muestras 4 y 8 presentaron mayor crecimiento en los diferentes medios de asimilación de carbono (Tabla 3).

**Tabla 3. Actividad metabólica en muestras de Mochis, Sinaloa.**

Muestra	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>CAM 1</b>	X	X	XX	XX	X	X	X	XX
<b>CAM 2</b>	XX	X	XX	XXX	XX	XX	X	XXX
<b>CAM 3</b>	XXX	XX	XX	XXX	XX	XXX	X	XXX
<b>GLICEROL</b>	+	-	-	-	-	-	-	-
<b>ADNasa</b>	-	-	-	-	-	+	-	-
<b>CASEINA</b>	-	-	-	-	+	-	-	-

X=Crecimiento leve, XX=Crecimiento moderado y XXX=Crecimiento abundante

En los aislamientos de Vicente Guerrero, Tlaxcala se observó que las bacterias metabolizan eficientemente la sacarosa y dextrosa, presentando un mayor crecimiento las muestras 4 y 5 (Tabla 4).

**Tabla 4. Actividad metabólica en muestras de Vicente Guerrero, Tlaxcala.**

<b>Muestra</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>CAM 1</b>	x	x	x	x	x
<b>CAM 2</b>	xx	x	x	xxx	xxx
<b>CAM 3</b>	xx	xx	xx	xx	xxx
<b>GLICEROL</b>	-	-	-	-	-
<b>ADNasa</b>	-	-	-	-	-
<b>CASEINA</b>	-	-	-	-	-

X=Crecimiento leve, XX=Crecimiento moderado y XXX=Crecimiento abundante

Con respecto a los aislamientos de Chachapa, Puebla se presentó mayor crecimiento en la asimilación de carbono en comparación con las otras dos zonas de estudio, la muestra 1 presentó el menor crecimiento, sin embargo resultó positiva para la prueba de ADNasa (Tabla 5).

**Tabla 5. Actividad metabólica en muestras de Chachapa, Puebla.**

<b>Muestra</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>CAM 1</b>	x	xx	xx	xx	xx
<b>CAM 2</b>	x	xxx	xxx	xxx	xxx
<b>CAM 3</b>	x	xxx	xxx	xxx	xxx
<b>GLICEROL</b>	-	-	-	-	-
<b>ADNasa</b>	+	-	-	-	-
<b>CASEINA</b>	-	-	-	-	-

X=Crecimiento leve, XX=Crecimiento moderado y XXX=Crecimiento abundante

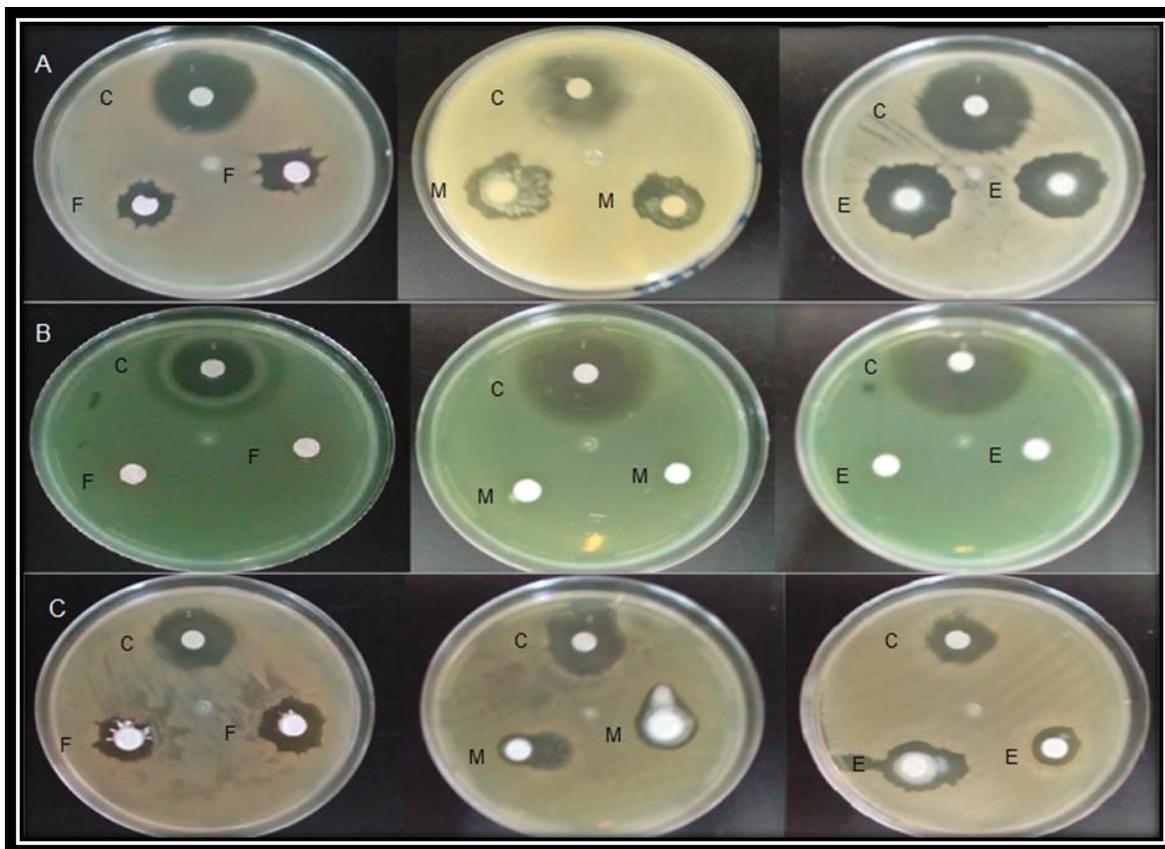
### **Evaluación y cuantificación de la formación de biopelícula**

De las muestras aisladas de Los Mochis, Sinaloa la mayoría (62.5 %) presentó una producción moderada de biopelícula, con una producción abundante el 25 % e identificadas como no productoras el 12.5 %. La zona de Vicente Guerrero, Tlaxcala mostró que el 60 % de los aislamientos no produce biopelícula, siendo productoras débiles y moderadas con 20 % respectivamente. Con respecto a las muestras de Chachapa, Puebla se identificaron como productoras débiles de biopelícula un 60 % de las muestras y el 40 % no productoras (Tabla 6).

**Tabla 6. Determinación de la formación de biopelícula**

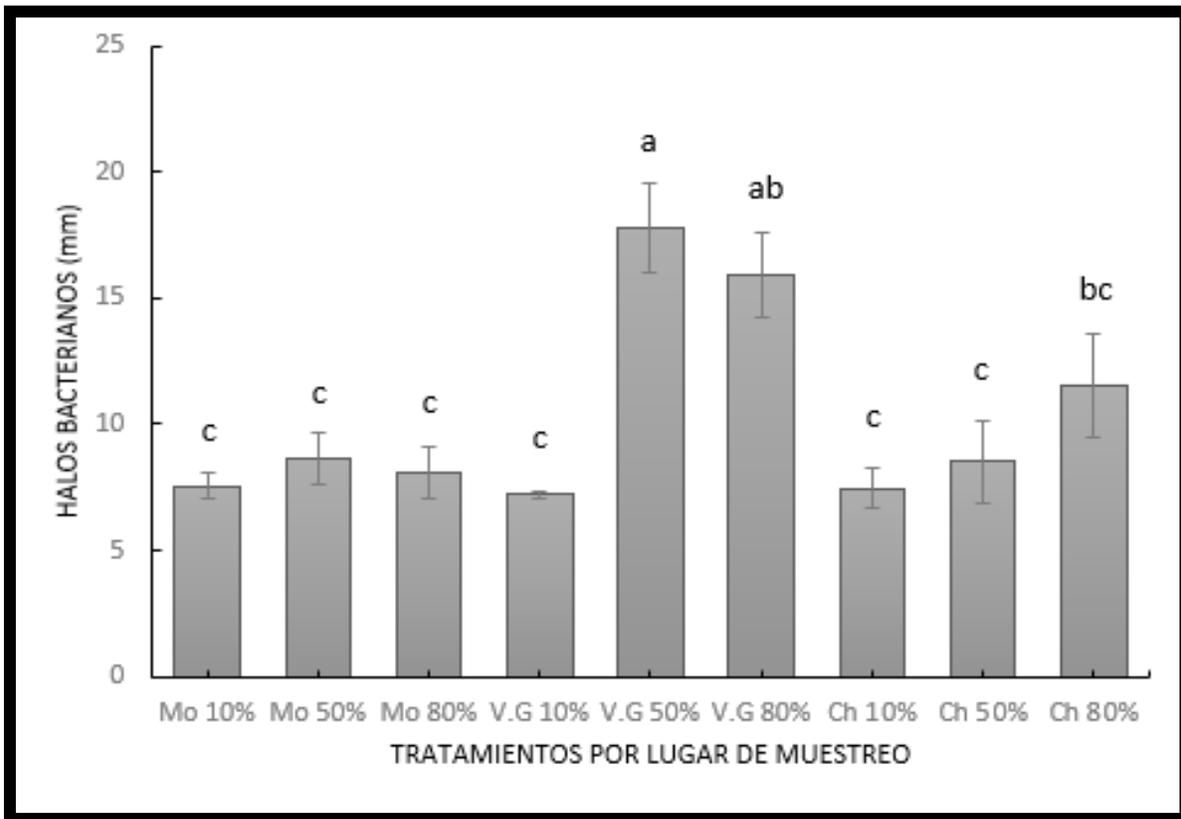
<b>Muestra</b>	<b>Biopelícula (Mochis, Sinaloa)</b>	<b>Biopelícula (Vicente Guerrero, Tlaxcala)</b>	<b>Biopelícula (Chachapa, Puebla)</b>
<b>A (1)</b>	Abundante	Moderada	No productora
<b>B (2)</b>	Moderada	No productoras	Débil
<b>C (3)</b>	Moderada	No productoras	Débil
<b>D (4)</b>	Abundante	Débil	No productora
<b>E (5)</b>	Moderada	No productoras	Débil
<b>F (6)</b>	Moderada		
<b>G (7)</b>	No productora		
<b>H(8)</b>	Moderada		

Se realizó prueba de viabilidad de los diferentes aislamientos bacterianos, en agar Mueller-Hinton en presencia de Carbofuran, 2,4-D y Malation al 10 %, 50 % y 80 %, considerándose como control a ciprofloxacino al 1 % con la finalidad de descartar actividad inespecífica por parte de los aislamientos (Figura 5).



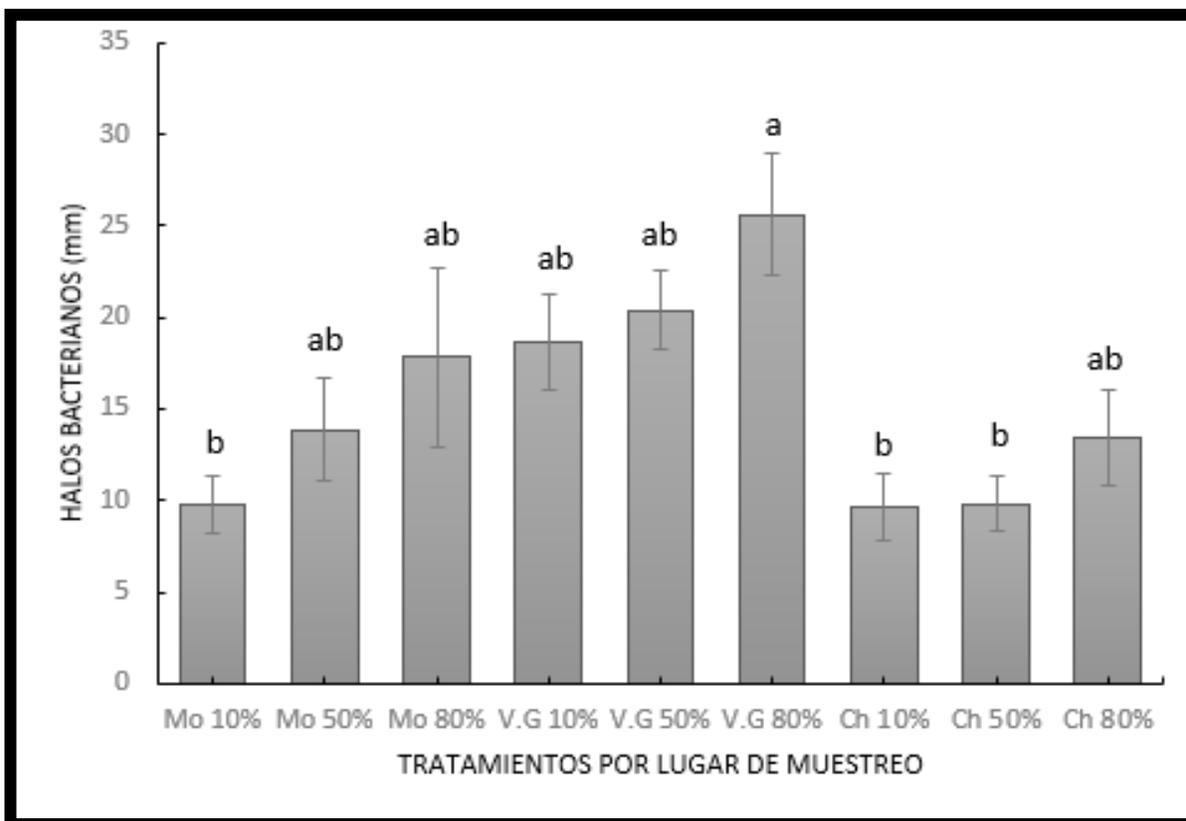
**Figura 5.** Prueba de viabilidad de los aislamientos bacterianos en agar Mueller-Hinton, en presencia de discos impregnados con los plaguicidas al 80 % (C=Ciprofloxacino, F= Carbofuran, M= Malation y E=Esteron (2,4-D)). A: aislamiento 2 de Vicente Guerrero, B: aislamiento 5 de Los Mochis y C: aislamiento 1 de Chachapa.

Se realizó el estadístico comparando las zonas de muestreo por plaguicida en sus tres concentraciones. Los resultados muestran que para cada plaguicida los promedios de los halos bacterianos fueron significativamente distintos, Carbofuran (ANOVA  $F_{8,45}=9.29$ ,  $p<0.0001$ ), 2,4-D (ANOVA  $F_{8,45}=2.91$ ,  $p<0.0104$ ) y Malation (ANOVA  $F_{8,45}=2.78$ ,  $p<0.0138$ ). La significancia indica que hay diferencias en los promedios de la inhibición bacteriana expresada en el tamaño de halos bacterianos formados por los diferentes porcentajes de cada plaguicida y que estos halos difieren también por la zona agrícola de donde fueron extraídas las bacterias (Figuras 6-8).



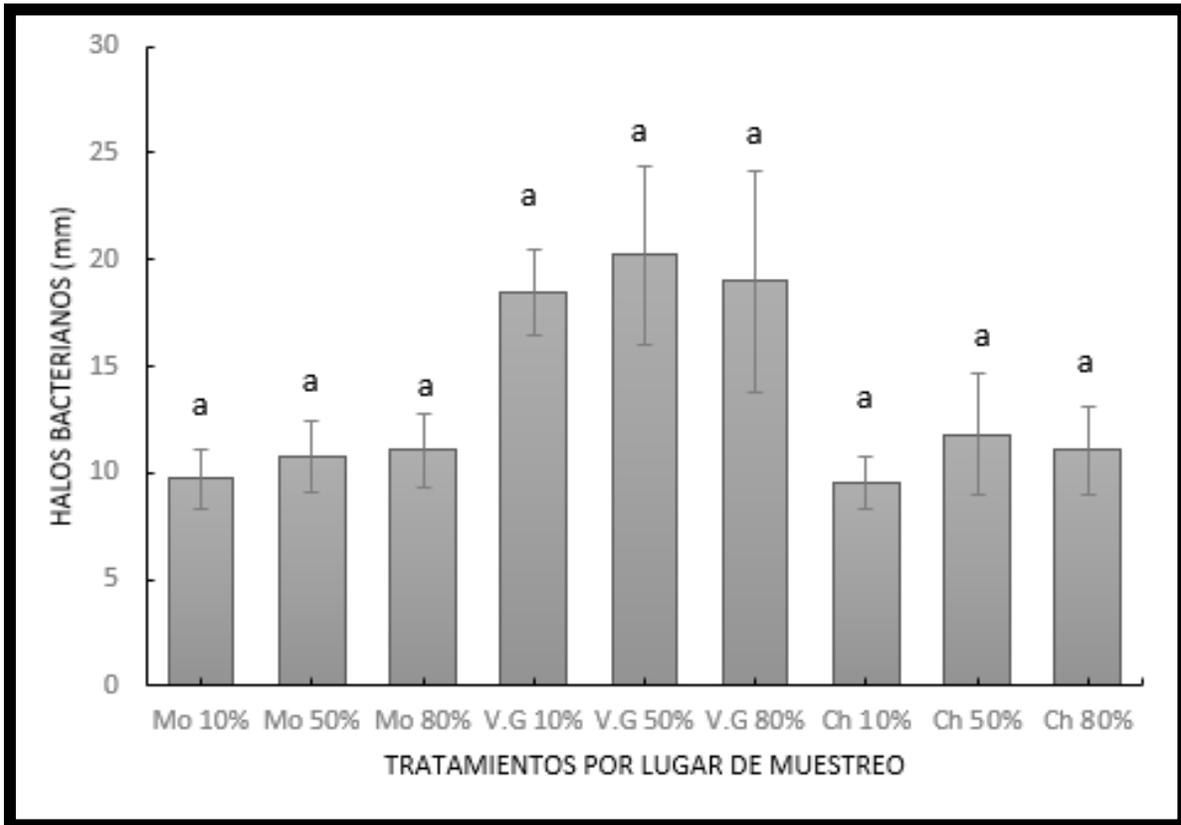
**Figura 6.** Gráfico de los halos bacterianos, de aislamientos provenientes de los lugares de muestreo (Mo=Mochis, V.G=Vicente Guerrero y Ch=Chachapa) en presencia de **Carbofuran** en sus diferentes porcentajes de concentración. Los promedios con la misma letra no son significativamente diferentes unos de otros (Tukey-Kramer,  $P>0,05$ ).

En presencia de Carbofuran los aislamientos de Vicente Guerrero mostraron mayor susceptibilidad, destacando las concentraciones al 50 % y 80 %, presentando diferencias significativas ( $p<0.05$ ) con los aislamientos de Los Mochis, dado que estos aislamientos presentaron mayor resistencia al Carbofuran.



**Figura 7.** Gráfico de los halos bacterianos, de aislamientos provenientes de los lugares de muestreo (Mo=Mochis, V.G=Vicente Guerrero y Ch=Chachapa) en presencia de **2,4-D** en sus diferentes porcentajes de concentración. Los promedios con la misma letra no son significativamente diferentes unos de otros (Tukey-Kramer,  $P>0,05$ ).

Los halos bacterianos de los aislamientos de Vicente Guerrero en presencia del 2,4-D en sus tres concentraciones mostraron la mayor susceptibilidad (Figura 2). Las significancias ( $p<0.05$ ) más notables se presentaron entre Vicente Guerrero en la concentración del 80 % con respecto a los Mochis al 10 % y Chachapa al 10 % y 50 %.



**Figura 8.** Gráfico de los halos bacterianos, de aislamientos provenientes de los lugares de muestreo (Mo=Mochis, V.G=Vicente Guerrero y Ch=Chachapa) en presencia de **Malation** en sus diferentes porcentajes de concentración. Los promedios con la misma letra no son significativamente diferentes unos de otros (Tukey-Kramer,  $P>0,05$ ).

En presencia de Malation los aislamientos de Vicente Guerrero presentaron la mayor inhibición bacteriana. En cuanto a las comparaciones en la prueba de Tukey dice que no hay una diferencia significativa al comparar los promedios de los diferentes porcentajes del Malation en las tres zonas de muestreo, esto puede deberse al rango de tolerancia que manejan los datos que se comparan en la prueba.

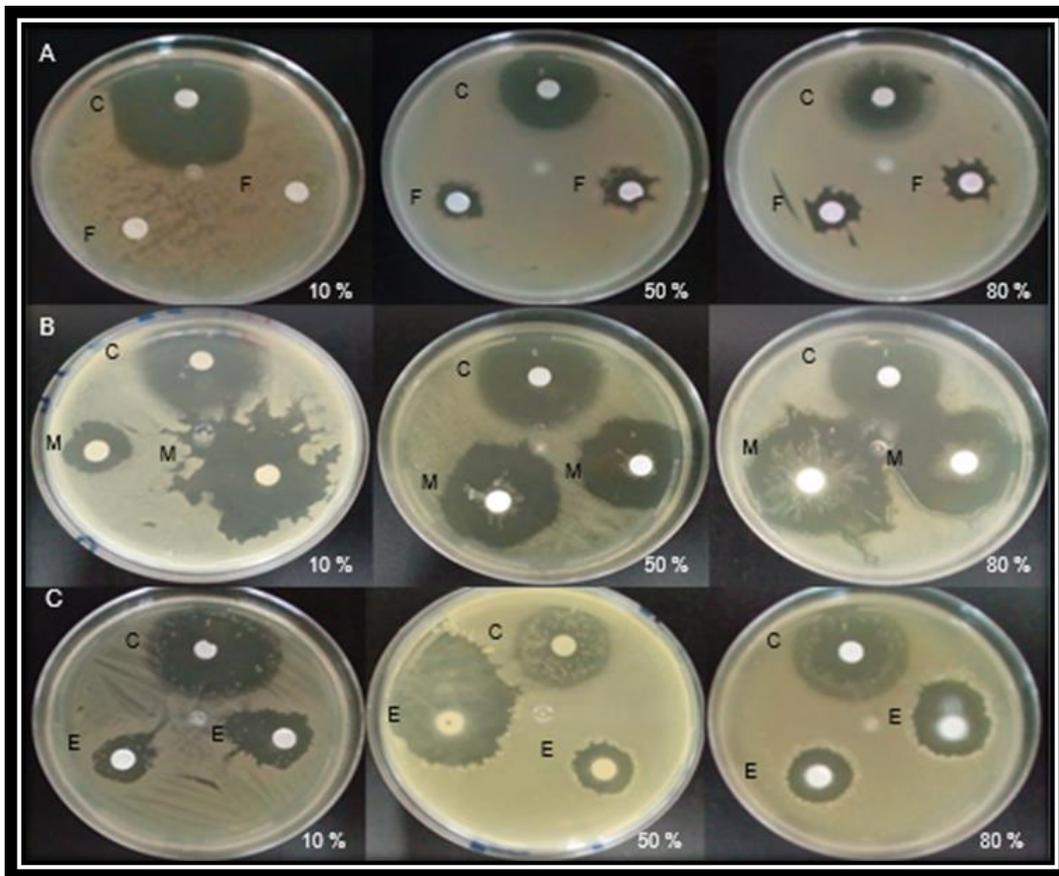
Al realizar la comparación por zona de muestreo y por plaguicida en sus tres concentraciones y añadiendo el control (Ciprofloxacino) se encontraron las siguientes significancias, en Los Mochis se encontró que los promedios de los halos bacterianos fueron significativamente distintos para Carbofuran (ANOVA

$F_{3,28}=175.15$ ,  $p<0.0001$ ), 2,4-D (ANOVA  $F_{3,28}=23.80$ ,  $p<0.0001$ ) y Malation (ANOVA de una vía  $F_{3,28}=21.25$ ,  $p<0.001$ ). Las principales significancias fueron entre el Ciprofloxacino y las concentraciones.

En Chachapa los promedios de los halos bacterianos fueron significativamente distintos para Carbofuran (ANOVA  $F_{3,16}=32.85$ ,  $p<0.0001$ ), 2,4-d (ANOVA  $F_{3,16}=7.43$ ,  $p<0.025$ ) y Malation (ANOVA  $F_{3,16}=24.37$ ,  $p<0.001$ ). Las principales significancias fueron entre el Ciprofloxacino y las concentraciones.

Y para Vicente Guerrero, en Carbofuran (ANOVA  $F_{3,16}=48.85$ ,  $p<0.0001$ ) destacó la diferencia entre la concentración al 10 % con respecto a la de 50 % y 80 %; y 2,4-D (ANOVA  $F_{3,16}=9.01$ ,  $p<0.001$ ), en estos dos plaguicidas existen significancias entre el Ciprofloxacino y las concentraciones. En cuanto al Malation los promedios no fueron significativamente distintos (ANOVA  $F_{3,16}=2.61$ ,  $p>0.05$ ).

Al comparar los aislamientos de Los Mochis con los de Chachapa, no se encontraron diferencias significativas de los halos en presencia de los tres plaguicidas. Sin embargo, los aislamientos de Vicente Guerrero presentaron diferencias significativas ( $p<0.05$ ) respecto a Los Mochis y Chachapa. Cabe resaltar que entre las diferentes concentraciones de los tres plaguicidas se encontraron diferencias en la expresión de los halos de los aislamientos de Vicente Guerrero (Figura 9).



**Figura 9.** Prueba de viabilidad de los aislamientos bacterianos de Vicente Guerrero, C=Ciprofloxacino, F= Carbofuran, M= Malation y E= Esteron (2,4-D); A: aislamiento 5, B: aislamiento 1 y C: aislamiento 5.

Al Comparar los promedios de los halos bacterianos de las diferentes zonas de estudio entre los plaguicida se encontraron diferencias significativas (ANOVA  $F_{8,18}=7.148$ ,  $P<0.003$ ), resaltando las diferencias entre los halos de Carbofuran de los Mochis con los halos de Malation y 2,4-D de Vicente Guerrero, al hacer la comparación de los promedios el 2,4-D resulto tener los halos bacterianos más grandes en todas las zonas de muestreo, por lo que resulta ser el plaguicida más tóxico para las bacterias, el Malation fue el segundo plaguicida con mayor inhibición bacteriana y el Carbofuran tuvo los halos bacterianos más pequeño, por lo que es el plaguicida menos tóxico para las bacterias.

Se realizó una REGR (Linear Regression on the factor scores) para cada plaguicida, comparando las tres zonas de muestreo con respecto al promedio de la concentración al 10 %, 50 %, 80 % y sus controles (Ciprofloxacino).

En los gráficos de cada plaguicida se pueden ver algunas tendencias generalizadas como: la amplitud de los halos bacteriano aumenta de abajo hacia arriba con respecto al eje y, los sitios de muestreo se agrupan de izquierda a derecha con respecto al eje x; los círculos azules agrupan datos que tienen similitudes entre sí en el tamaño de los halos bacterianos, estos datos están localizados dentro de las curvas y son cercanos a la media; y los círculos rojos agrupan datos con similitudes entre sí, pero están localizado por afuera de las curvas y están alejados de la media.

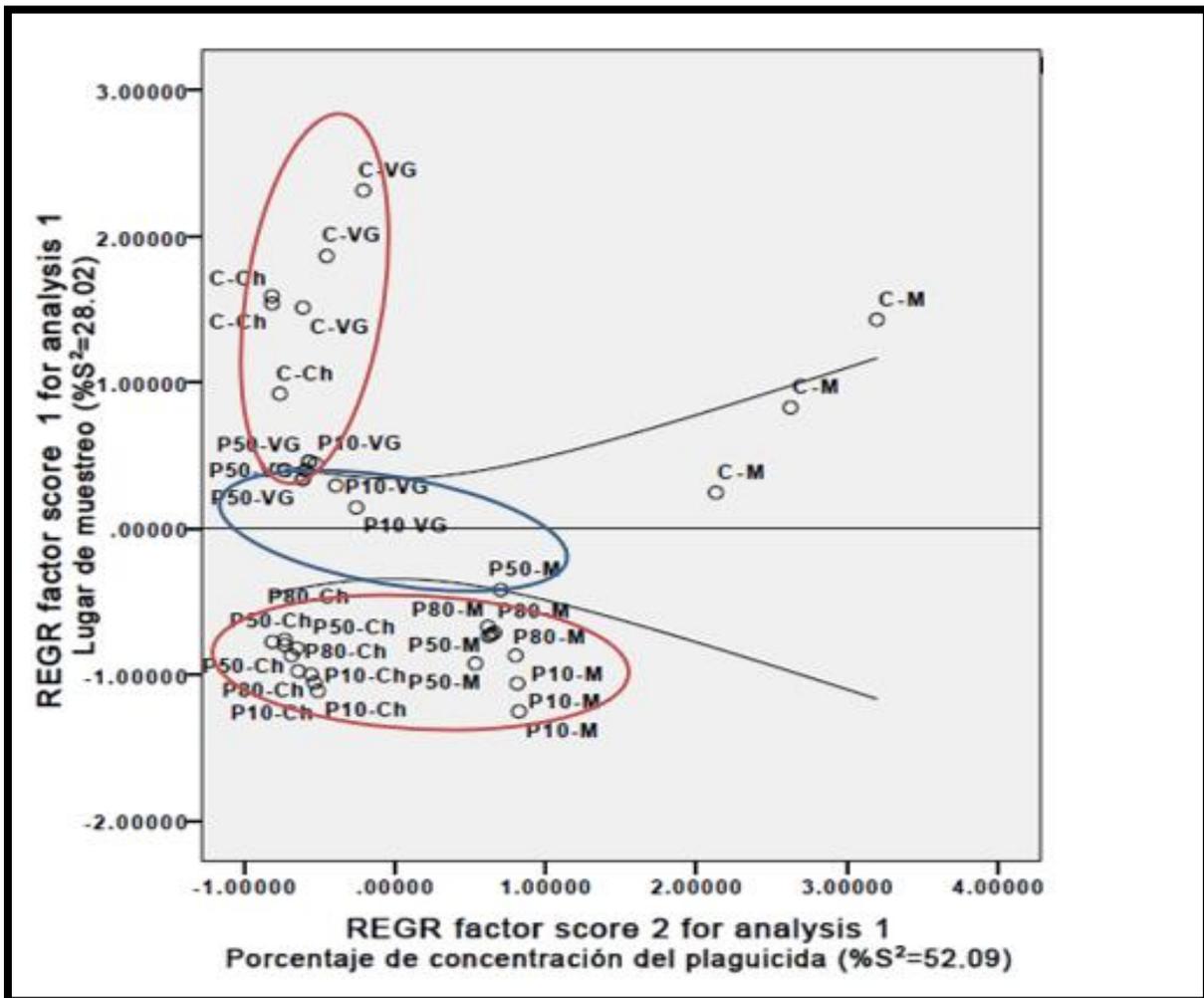


Figura 10. Análisis estadístico de REGR de los porcentajes del Carbofuran vs los lugares de muestreo. VG=Vicente Guerrero, Ch=Chachapa, M=Los Mochis, C=Ciprofloxacino. P10, P50 y P80 indican los porcentajes de las concentraciones del plaguicida.

El gráfico de Carbofuran muestra similitudes cercanas entre las muestras de Chachapa y de Los Mochis en las diferentes concentraciones; Vicente Guerrero forma una agrupación en torno a sus diferentes concentraciones, sin embargo son similares los halos bacterianos de esta zona de estudio respecto al Ciprofloxacino, mostrando cercanía entre las agrupaciones (Figura 10).

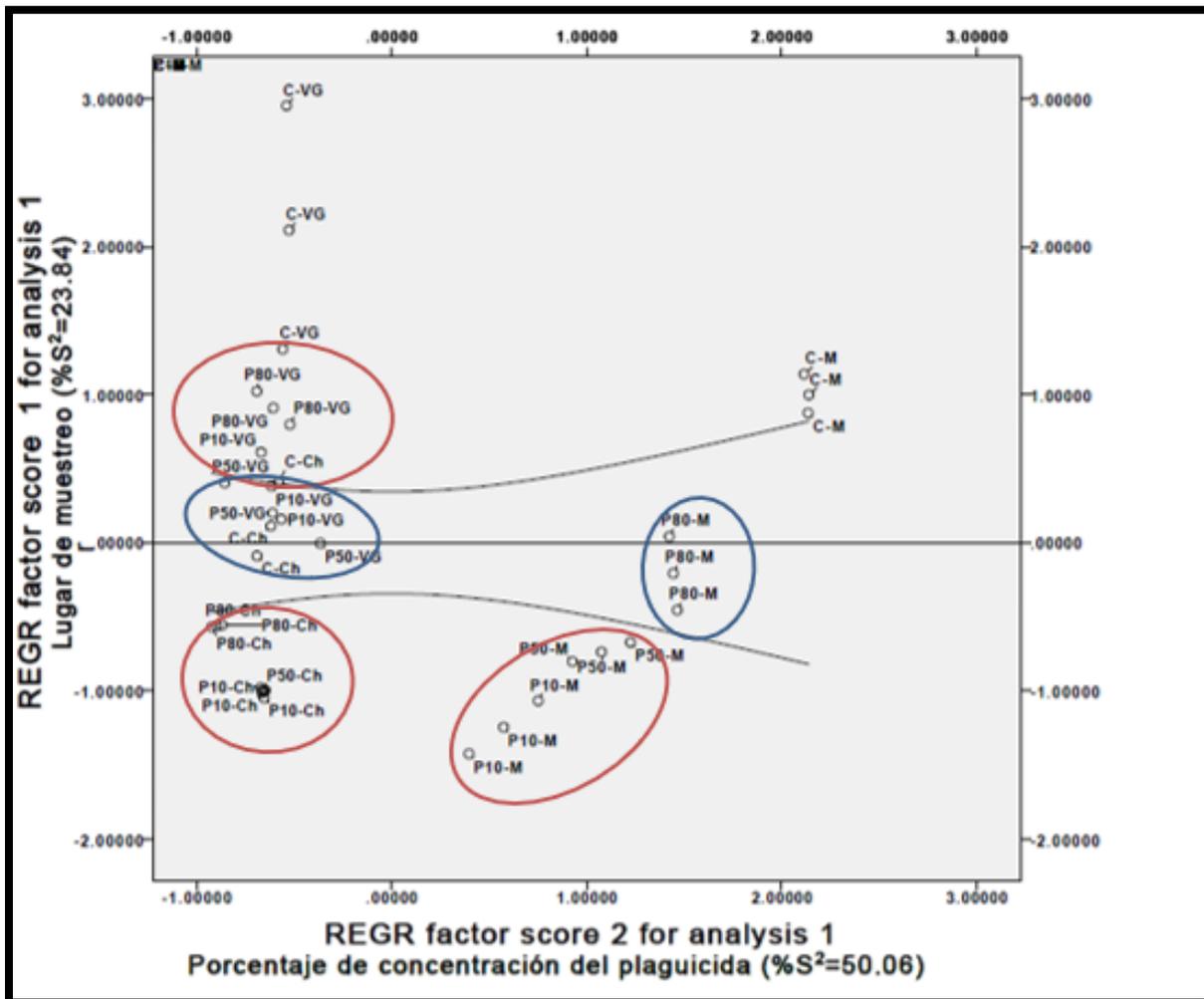
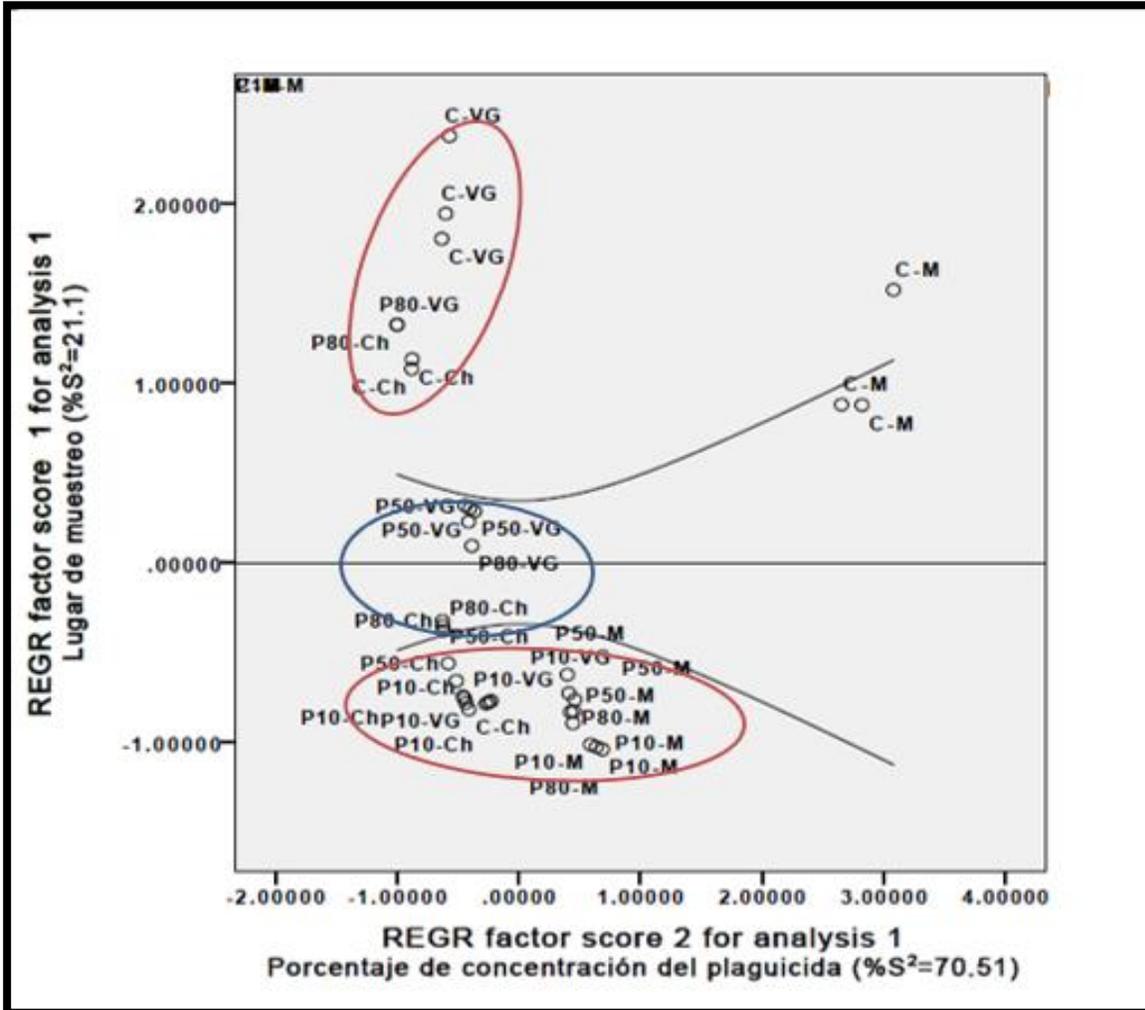


Figura 11. Análisis estadístico de REGR de los porcentajes del 2,4-D vs los lugares de muestreo. VG=Vicente Guerrero, Ch=Chachapa, M=Los Mochis, C=Ciprofloxacino. P10, P50 y P80 indican los porcentajes de las concentraciones del plaguicida.

El gráfico del 2,4-D presenta diferencias más claras entre las muestras de Chachapa y Los Mochis sin embargo aún guardan similitud en el tamaño de los halos bacterianos, las diferentes concentraciones de Vicente Guerrero se agrupan en dos, en donde las muestras que salen de la curva tienen los halos bacterianos de mayor tamaño (Figura 11).

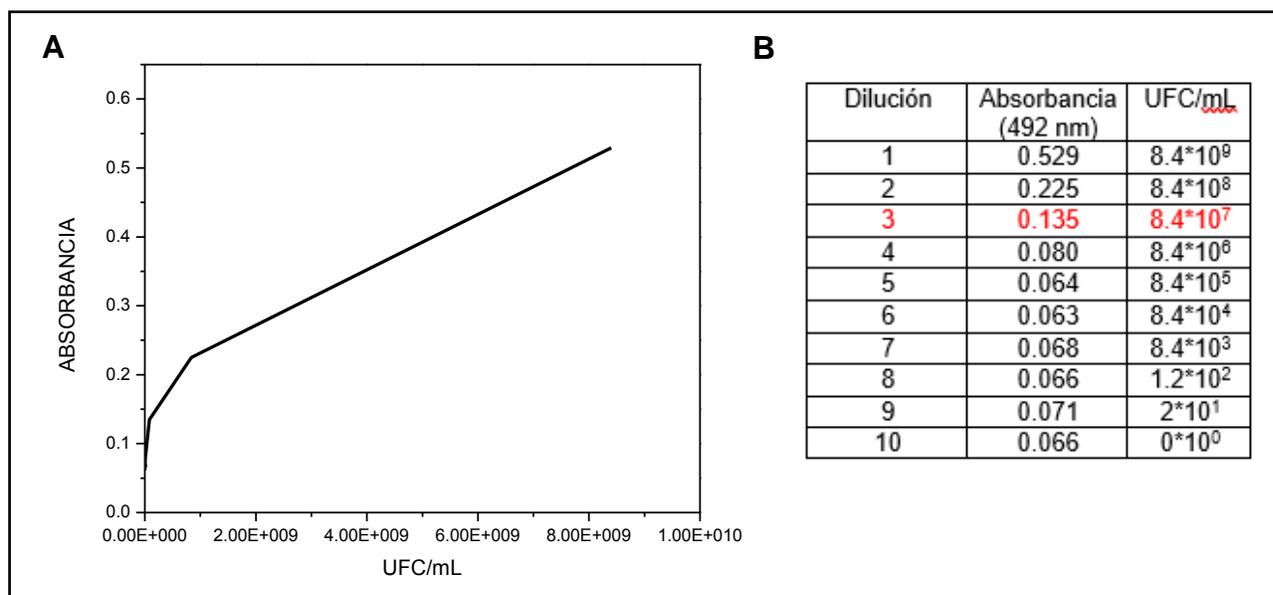


**Figura 12.** Análisis estadístico de REGR de los porcentajes del Malation vs los lugares de muestreo. VG=Vicente Guerrero, Ch=Chachapa, M=Los Mochis, C=Ciprofloxacino. P10, P50 y P80 indican los porcentajes de las concentraciones del plaguicida.

Malation muestra mayor similitud entre las muestras de Chachapa y Los Mochis formando un grupo, en cuanto a las muestras de Vicente Guerrero, el mayor número de estas se agrupa dentro de la curva guardando similitudes entre ellas mismas, no obstante algunas muestras con halos de inhibición grandes se agrupan con el Ciprofloxacino (Figura 12).

## Preparación de los inóculos bacterianos

Por medio de la densidad óptica y las UFC/mL cuantificadas en placa se realizó el ajuste del inóculo bacteriano, y se seleccionó la dilución de  $8.4 \times 10^7$  para realizar la inoculación bacteriana (Figura 13).



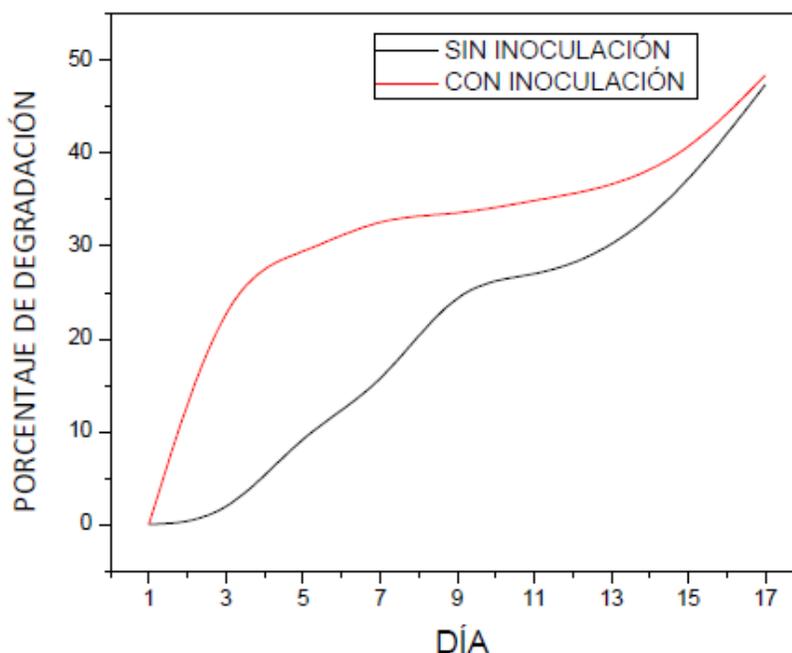
**Figura 13.** Comparativo entre la absorbancia y las UFC/mL., panel (A) absorbancia de las diferentes diluciones comparado con las UFC/mL., panel (B) se muestran los datos, resaltando la dilución número 3 que se utilizó en el inóculo.

## Cuantificación de la degradación de los plaguicidas por espectro UV-Vis

Al realizar la comparación entre la degradación del 2,4-D con y sin inoculación del consorcio bacteriano, se observó una mayor degradación en los primeros 7 días, hacia el final del experimento (día 17) fueron muy similares los porcentajes de degradación. El 2,4-D en el día 3, la muestra con inoculación presentó una diferencia de 26.28 % más de degradación que el plaguicida sin inoculación y en la última muestra (día 17) la diferencia disminuyó a 1.3 % (Tabla 7 y Figura 14).

**Tabla 7. Degradación del 2,4-D, considerándose como referencia  $\lambda = 283$  nm.**

Día	Sin inoculación bacteriana			Con inoculación bacteriana		
	Absorbancia	Porcentaje	Degradación	Absorbancia	Porcentaje	Degradación
1	0.8048	100.00	0.00	0.8048	100.00	0.00
3	0.8012	99.56	0.44	0.5848	73.29	26.71
5	0.7223	89.98	10.02	0.5645	70.82	29.18
7	0.6849	85.44	14.56	0.5314	66.80	33.20
9	0.5886	73.75	26.25	0.5301	66.64	33.36
11	0.5858	73.41	26.59	0.5171	65.07	34.93
13	0.5618	70.49	29.51	0.5062	63.74	36.26
15	0.5031	63.37	36.63	0.4760	60.08	39.92
17	0.4145	52.61	47.39	0.4060	51.58	48.42



**Figura 14. Comparación del porcentaje de degradación del 2,4-D.**

El Malation con inoculación bacteriana presentó en los primeros 9 días la mayor descomposición, observándose en la muestra del día 3 una diferencia de 9.63 % con respecto a la muestra sin inocular y la muestra final (día 17) presentó 5.6 % más degradación con respecto al no inoculado (Tabla 8 y Figura 15).

**Tabla 8. Degradación del Malation, considerándose como referencia  $\lambda = 230$  nm.**

Día	Sin inoculación bacteriana			Con inoculación bacteriana		
	Absorbancia	Porcentaje	Degradación	Absorbancia	Porcentaje	Degradación
1	0.2584	100.00	0.00	0.2584	100.00	0.00
3	0.2558	99.08	0.92	0.2286	89.44	10.56
5	0.2516	97.59	2.41	0.1977	78.50	21.50
7	0.2321	90.68	9.32	0.1909	76.09	23.91
9	0.2308	90.22	9.78	0.1863	74.46	25.54
11	0.1882	75.13	24.87	0.1766	71.02	28.98
13	0.1721	69.43	30.57	0.1763	70.92	29.08
15	0.1427	59.02	40.98	0.1472	60.61	39.39
17	0.1424	58.91	41.09	0.1266	53.31	46.69

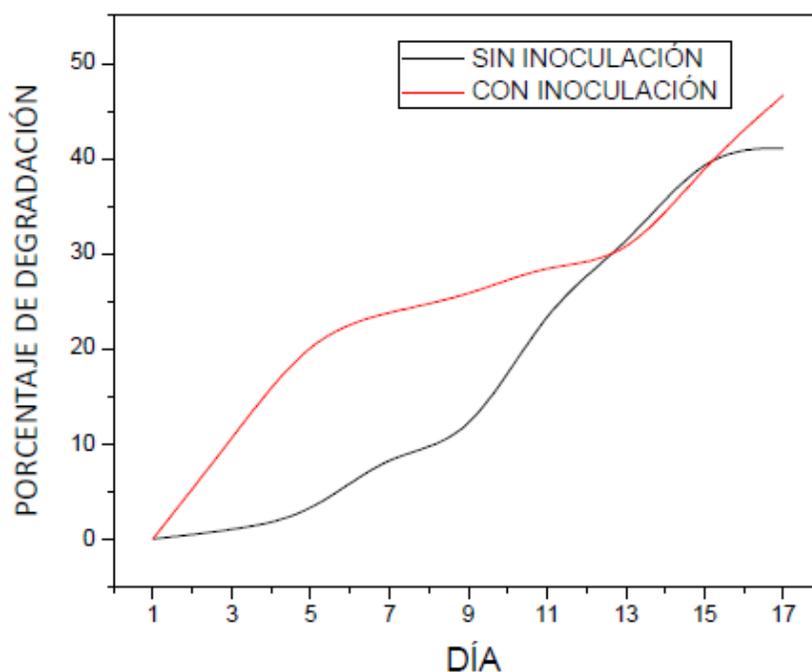
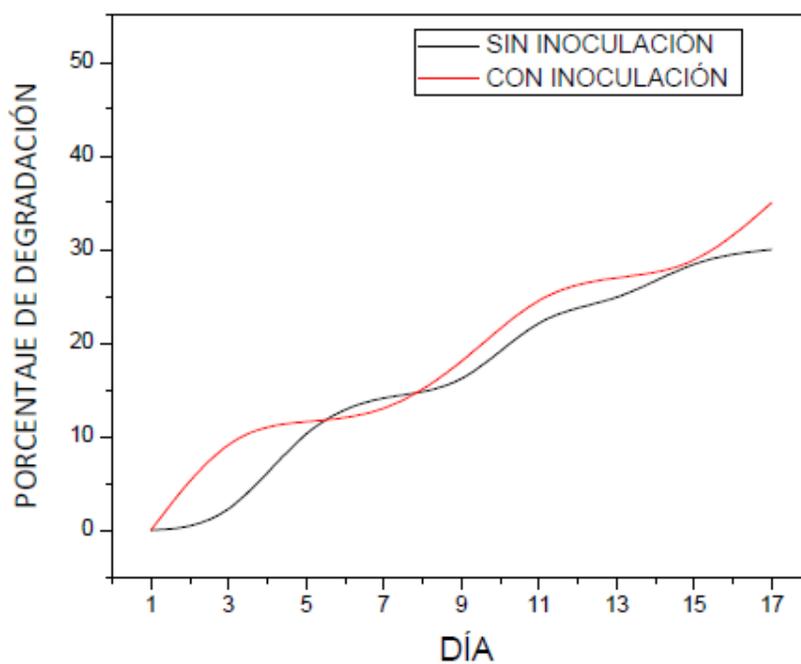


Figura 15. Comparación del porcentaje de degradación del Malation.

En el día 7 y 15, la muestra sin inoculación bacteriana tuvo mayor degradación del Carbofuran respecto al que presentó inoculación, sin embargo en la primera muestra (día 3) se observó una mayor degradación respecto a la muestra sin inoculación en un 10.23 % y en la muestra final (día 17) predominó la degradación con un 5 % más (Tabla 9 y Figura 16).

**Tabla 9. Degradación del Carbofuran, considerándose como referencia  $\lambda = 276 \text{ nm}$ .**

Día	Sin inoculación bacteriana			Con inoculación bacteriana		
	Absorbancia	Porcentaje	Degradación	Absorbancia	Porcentaje	Degradación
1	0.8452	100.00	0.00	0.8452	100.00	0.00
3	0.8403	99.42	0.58	0.7534	89.19	10.81
5	0.7465	88.38	11.62	0.7462	88.35	11.65
7	0.7213	85.41	14.59	0.741	87.73	12.27
9	0.7194	85.19	14.81	0.6955	82.38	17.62
11	0.6463	76.58	23.42	0.6276	74.38	25.62
13	0.6394	75.77	24.23	0.6149	72.89	27.11
15	0.5983	70.93	29.07	0.6089	72.18	27.82
17	0.5905	70.02	29.98	0.5479	65.00	35.00



**Figura 16. Comparación del porcentaje de degradación del Carbofuran.**

## IX. Discusión

Durante la identificación bacteriana de los diversos aislamientos se observó predominantemente al género *Pseudomonas*, y el que exista diferencia entre la identificación bacteriana por zona de estudio no se atribuye al tipo de manejo, ya que en los dos tipos de manejo se presentó este género de forma predominante. El género *Pseudomonas* ha sido reportado en diversos trabajos donde destacan su capacidad de metabolizar múltiples contaminantes (Kamika y Momba 2013; Narváez *et al.*, 2008; Mendoza *et al.*, 2011). Algunas especies del género *Pseudomonas* son resistentes a los plaguicidas y pueden metabolizarlos con cierta eficiencia, dependiendo de factores abióticos, sus características físicas, metabólicas y el tiempo de contacto con el plaguicida (Quinchia *et al.*, 2006).

En cuanto a los ensayos de actividad metabólica, se observó que la mayoría de los aislamientos mostraron mejor actividad frente a la sacarosa y dextrosa, esto debido a que su estructura química es más sencilla.

Las diferencias encontradas en los ensayos de actividad metabólica pueden deberse al tipo de manejo agrícola que tienen las zonas de muestreo, los aislamientos bacterianos provenientes de Los Mochis (con un manejo convencional) presentaron actividad en todos los sustratos evaluados, los aislamientos de Chachapa mostraron actividad en los medios CAM y ADNasa, y en contra posición los de Vicente Guerrero tuvieron actividad nula en los medios ADNasa, lipasa y proteasa. El que los aislamientos de manejo convencional presenten diferente actividad se debe a que el uso de pesticidas modifica su actividad metabólica, sin en cambio se disminuyen la diversidad microbiana del suelo (Gravina *et al.*, 2017; Griffiths *et al.*, 2000).

La ventaja de presentar actividad en las pruebas de proteasas, lipasas y ADNasas, es que estas bacterias tienen mayor probabilidad de degradar diferentes compuestos, dentro de los cuales intervienen en diferentes ciclos

biogeoquímicos. La actividad proteasa interviene en el ciclo del nitrógeno, las lipasas en el del carbono y ADNasa en el del fósforo (Ochoa *et al.*, 2007)

Los plaguicidas pueden tener un efecto inhibitor en las bacterias causando alteraciones en la formación de biomasa y su actividad metabólica (Bórtoli *et al.*, 2012). Ante este escenario las bacterias que están adaptadas a la presencia de plaguicidas pueden ser las que tengan una mayor producción de biopelícula. La biopelícula favorecen la sobrevivencia y adaptabilidad de las bacterias, debido a que están compuestas de sustancias extracelulares poliméricas que las rodean, así mismo estas sustancias les dan a las bacterias la capacidad de adherirse a diferentes estructuras, las protege contra sustancias antimicrobianas y toxinas, mantiene la hidratación por más tiempo, facilita la obtención de nutrientes, aminora las adversidades ambientales, entre otras (Dong *et al.*, 2011; Ledebøer y Jones, 2005; Bjarnsholt *et al.*, 2013; Costerton, 1999).

Lo anteriormente descrito puede justificar el motivo por el cual Los Mochis tuvo una mayor producción de biopelícula, al tener sus suelos en constante contacto con pesticidas, en la zona de Chachapa al haber realizado aplicaciones continuas de herbicidas mostraron aislamientos con moderada producción de biopelícula, y finalmente en Vicente Guerrero en la mayoría de los aislamientos se presentó producción nula de biopelícula, al tener una agricultura libre de agroquímicos.

En los ensayos en presencia de plaguicidas, los promedios de los diferentes porcentajes por zona de muestreo demostraron que el herbicida 2,4-D promovió mayor inhibición bacteriana, seguido del Malation, y finalmente el Carbofuran presentó la menor inhibición.

Benitez y colaboradores en 2009 realizaron experimentos con diferentes plaguicidas en donde los herbicidas presentaron un efecto medianamente tóxico por arriba de los insecticidas y por debajo de los fungicidas, los cuales representan la toxicidad más alta para *Bacillus subtilis*. Así mismo se presentó una diferencia entre el Furadan y el herbicida Tordon 101, describiendo a Furadan como un plaguicida que no tiene una toxicidad significativa en las bacterias, por el contrario,

Tordon 101 que contiene entre sus compuestos 2,4 D fue el herbicida más tóxico reportado (Benitez *et al.*, 2009). Lo anterior coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo, en el cual el herbicida Esteron (2,4-D) presentó la mayor inhibición bacteriana en comparación de los insecticidas y acaricidas Malation y Furadan (Carbofuran).

Pese a que el 2,4-D puede causar inhibición bacteriana, algunas bacterias como *Rhizobium* a pesar de experimentar efectos adversos con este plaguicida, pueden llegar a modificar su metabolismo para poder asimilarlo (Bhat *et al.*, 2015).

El Malation fue el plaguicida que induce halos de mayor diámetro después del 2,4-D, y en contraposición con el Carbofuran se ha encontrado en diferentes trabajos que puede inhibir a los microorganismos, un ejemplo es un estudio donde se midió el nivel de inhibición de microorganismos en el cultivo de arroz, en el cual se afirmó que el Malation tiene una reducción significativa sobre microorganismos solubilizadores de fosforo (Ortiz *et al.*, 2013). El Malation se ha reportado que puede disminuir la abundancia de la diversidad microbiana en lodos activados en concentraciones de 0.1 mg/L y 3 mg/L en exposiciones de 40 días (Rauglas *et al.*, 2016).

En los ensayos se observó que los aislamientos más susceptibles a los plaguicidas fueron los de Vicente Guerrero, sobresaliendo Malation y 2,4-D en todas sus concentraciones por la inhibición bacteriana que presentan, esto puede deberse al tipo de manejo en el cual existe mínimo uso de plaguicidas. En contraposición se encuentran los aislamientos de Los Mochis y Chachapa que mostraron menor inhibición en presencia de los plaguicidas, lo que se puede explicar de acuerdo a algunos trabajos con glifosato, los cuales mostraron que existe una menor vulnerabilidad microbiana al plaguicida tras una nueva aplicación, es decir, son menos sensibles las bacterias al plaguicida en suelos con historial previo de aplicación de glifosato (Araújo *et al.*, 2003). De igual forma otro estudio con suelo sin historial de aplicación de glifosato demostró ser más sensible que uno con aplicación previa (Bórtoli *et al.*, 2012).

En los resultados obtenidos en la prueba REGR se puede corroborar que los aislamientos de Vicente Guerrero mostraron mayor inhibición, asemejándose al control Ciprofloxacino, y se confirmó la semejanza de los halos bacterianos de Chachapa y Los Mochis por su agrupación en el gráfico.

Las bacterias mostraron mayor actividad degradativa en presencia del 2,4-D, seguido de Malation y Carbofuran. La degradación más eficiente del 2,4-D puede deberse a que las bacterias metabolizan mejor los compuestos orgánicos clorados.

En el día 17 el 2,4-D presentó un máximo de degradación con 48.42 %, lo que difiere con los resultados de Lizhen y colaboradores (2015) en los cuales *Cupriavidus campinensis* BJ71 degradó en 14 días al 2,4-D en un 87.13 %, en suelo no estéril; sin embargo los resultados del presente trabajo se asemejan a la degradación obtenida en suelo estéril, degradando al 2,4-D en 42.53 %.

En el día 17 el Malation tuvo un máximo de degradación del 46.68 %, dato similar al obtenido con muestras de *Pseudomonas* spp. extraídas de un pantano salino, que degradaron al Malation como única fuente de carbono. Hacia el día 30 una de las bacterias lo degradó 48 %, la cual concuerda en mayor proporción al presente trabajo (Bourquin, 1997). Por el contrario, existe una mayor discrepancia con lo reportado por Ibrahim y colaboradores (2014), donde sus aislamientos presentaron la siguiente actividad de degradación, *N. muscorum* con 91 %, *A. oryzae* 65 % y *S. platensis* 54 %. Estos ensayos fueron en cultivo líquido con una duración de 20 días en diferentes porcentajes, lo cual es contrastante debido a que los resultados aquí presentados fueron directamente en el suelo.

Los resultados pueden variar en gran medida en función de la especie bacteriana utilizada para degradar al plaguicida, tal es el ejemplo de *Alicyclobacillus tengchongensis*, de la cual se puede extraer una enzima que degrada

eficientemente el Malation y tiene un uso potencial para la desintoxicación de residuos de Malation (Xie *et al.*, 2013).

Cabe resaltar que la concentración inicial del Malation al extraerse de la mufla antes de inocularse fue más baja que los demás plaguicidas, esto se puede deber a que este compuesto se pudo haber descompuesto en la Mufla a pesar de que estuvo a una temperatura relativamente baja, puesto que es altamente sensible a la temperatura y su estructura química se transforma en un intervalo corto de tiempo debido a que no es muy estable, y cambia su estructura original en periodos cortos de tiempo a uno de sus subproductos de degradación. (Getzin y Roselfield, 1968).

El Carbofuran tuvo un máximo de degradación de 34.99 %, esto difiere en gran medida de lo reportado por diferentes autores como Castro y colaboradores (2018), que por medio de BPS (Pesticide Biopurification Systems), lograron la degradación total del Carbofuran en un promedio de 2-3 días, utilizando bioaumentación e inoculación normal.

En otros trabajos se ha reportado la degradación del Carbofuran por medio de *Arthrobacter* spp., en medio mineral en un intervalo de 72-120 h, siendo la degradación más rápida a una temperatura de 35°C (Ramanand *et al.*, 1988a), de forma similar en otro de sus trabajos el Carbofuran se hidrolizó en 42 h en un medio con glucosa y su estructura fenólica se mineralizó en 4-5 días (Ramanand *et al.*, 1988b)

De igual forma los resultados del presente trabajo difieren con *Pseudomonas* spp., las cuales puede degradar hasta en un 95 % el Carbofuran en caldo nutritivo en 30 días a 30°C (Felsot *et al.*, 1981). Estas diferencias se pueden deber a que en la mayoría de los trabajos citados realizan la degradación en condiciones más propicias para el crecimiento bacteriano, como los medios de cultivo líquidos y en

el presente trabajo se realizó la degradación del plaguicida con inoculación en muestras de suelo.

Las discrepancias entre los resultados también pueden variar por efecto de diferentes variables en el suelo, puesto que la adsorción, la persistencia y su movilidad de algunos plaguicidas se incrementa cuando el pH se acidifica y en presencia de un mayor contenido de arcillas y materia orgánica (Loux *et al.*, 1989; Shaner y O'Connor, 1991). La temperatura también juega un papel clave en la degradación del Malation, ya que su termoestabilidad se disipa rápidamente a temperaturas de 27 a 32°C (Guerrant *et al.*, 1970). De igual forma el que las bacterias hayan degradado el plaguicida en mayor proporción en el periodo de los 5-7 días puede estar condicionado a la velocidad del crecimiento bacteriano.

El consorcio bacteriano utilizado en el presente trabajo tiene el potencial para ser viable en un agroecosistema ya que como explica Gliessman y colaboradores (2007) es factible el agregar materiales externos al sistema, siempre y cuando estos sean de origen natural. Como el consorcio bacteriano no está modificado genéticamente, es viable el uso de estas bacterias *ex situ*, así mismo al biorremediar el suelo se deja libre al suelo para seguir uno de los principios de la Agroecología que es la promoción de la actividad biológica del suelo para mantener y mejorar su fertilidad.

Es importante mencionar que el consorcio bacteriano también puede contribuir en algunos ciclos biogeoquímicos al metabolizar las proteasas, las cuales intervienen en el ciclo del nitrógeno y ADNasas en el ciclo del fósforo (Ochoa *et al.*, 2007); y que el consorcio bacteriano puede resistir concentraciones altas de contaminación del 2,4-D, Malation y Carbofuran, tolerando hasta un 80% de la concentración de estos plaguicidas, gracias a su formación de biopelícula.

Estas bacterias pueden aplicarse en conjunto de otras prácticas agroecológicas para degradar o disminuir la concentración de los plaguicidas. Las prácticas

agroecológicas más viables a utilizar son las relacionadas con los abonos orgánicos (compostas, lombricompostas, bioles, estiércoles etc.) siempre y cuando tengan los nutrientes adecuados para la sobrevivencia microbiana, dado el caso se pueden combinar con sustratos adecuados para las bacterias; en ocasiones se puede agregar al suelo sustancias orgánicas sólidas biodegradables como son paja, bagazo, aserrín, composta madura y desechos agrícolas, estas sustancias al aumentar la porosidad del suelo aumentan la aeración y la cantidad de retención de agua (Buendía, 2012; Velasco y Volke, 2003; Semple *et al.*, 2001; Koranda *et al.*, 2014).

El realizar la biorremediación por medio de abonos orgánicos tiene grandes ventajas sobre los métodos físico-químicos de remediación, ya que estos pueden ser invasivos para suelos agrícolas, pueden movilizar los contaminantes a otras partes del suelo, algunos métodos solo transfieren los contaminantes de lugar (adsorción en carbón activado, el lavado, el confinamiento y solidificación) y se debe realizar el confinamiento de estos, lo cual acarrea un costo; por otro lado los métodos térmicos pueden disminuir la microbiota del suelo al aumentar considerablemente la temperatura del suelo para volatilizar o descomponer los contaminantes, por lo que estos métodos no son ideales para suelos agrícolas. Cabe mencionar que los métodos antes mencionados tienen un mayor costo en comparación a los abonos orgánicos (Velasco y Volke, 2003; INECC, 2007; Van Deuren, 1997).

Las técnicas más viables para suelos agrícolas son las de biorremediación, pero dentro de estas hay que seleccionar las menos invasivas, puesto que con algunos métodos se invade el suelo y utilizan equipos que suministren aire y nutrientes, lo que desde el punto de la agroecología no es sustentable, al usar combustibles fósiles para hacer llegar estos materiales (Gliesmman, 2007), es por esta razón que es más viable desde el punto de vista de la agroecología que el consorcio bacteriano del presente trabajo se incorporen al suelo en compostas orgánicas ricas en nutrientes.

Respecto a los datos obtenidos en este trabajo se plantea que los efectos de los plaguicidas se pueden volver un problema social al causar intoxicaciones y muertes por su mal uso, así mismo desde la perspectiva de la microbiología se puede afirmar que la diversidad microbiana puede verse disminuida en gran medida, sobre todo en lugares que no tienen un historial de aplicación de plaguicidas, lo que puede traer como consecuencia la disminución de la disponibilidad de los diferentes nutrientes, puede haber un desbalance biológico ocasionando una plaga o enfermedad, disminución de la degradación de la materia orgánica, entre otras.

Estos efectos pueden disminuir los rendimientos de producción del cultivo, influir en la salud y crecimiento de la planta, lo que puede aumentar el costo de producción al necesitar más insumos para realizar una compensación.

En un agroecosistema con contaminación del suelo ocasionada por plaguicidas u otras sustancias es importante realizar la eliminación de estas sustancias para poder tener una agricultura segura, obtener alimentos inocuos y de esta forma salvaguardar la salud de las personas, mejorando en gran medida su rendimiento en sus actividades y calidad de vida. Así mismo vale la pena tener suelos sanos con la finalidad de que mejore la calidad de la biota y el ambiente.

## **X. Conclusiones**

10.1 Las cepas bacterianas identificadas fueron *Pseudomonas* spp. (55.6 %), coliformes (22.2 %) y en combinación (22.2 %).

10.2 Los aislamientos de Los Mochis y Chachapa presentaron una mayor capacidad metabólica y formación de biopelícula.

10.3 Los aislamientos de Vicente Guerrero presentaron la mayor inhibición frente a los tres plaguicidas.

10.4 El plaguicida que mostró mayor inhibición bacteriana fue el 2,4-D, seguido de Malation y Carbofuran, siendo este último el que presentó la menor inhibición en los aislamientos y las concentraciones evaluadas.

10.5 El consorcio bacteriano degradó de forma más eficiente al 2,4-D (48.42 %), Malation (46.68 %) y Carbofuran (34.99 %), degradando de una manera más eficiente los plaguicidas en los primeros 5 días.

10.5 El mecanismo que les provee a las bacterias de una mejor adaptabilidad y sobrevivencia en el suelo es la formación de biopelícula, de tal forma el consorcio bacteriano se puede considerar para su aplicación en diferentes prácticas agroecológicas que usen compostas ricas en nutrientes.

## XII. Literatura citada.

1. Agrawal, A. y Sharma, B. (2010). Pesticides induced oxidative stress in mammalian systems: a review. *International Journal of Biological and Medical Research*, 1(3), 90-104.
2. Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. (2013). *Biorremediación de suelos y aguas contaminadas con compuestos orgánicos e inorgánicos*. Ciudad de México, México: Trillas.
3. Altieri, M. A. y Nicholls, C. I. (2000). *Agroecología. Teoría y práctica para una agricultura sustentable*. Ciudad de México, México: PNUMA.
4. Altieri, M.A. (1999). *Agroecología bases científicas para una agricultura sustentable*. Montevideo, Uruguay: Nordan-Comunidad.
5. Amábilis, L. E., Siebe, C., Moeller, G. y Durán, M. (2015). Remoción de mercurio, cromo y plomo por humedales artificiales inoculados con cepas tolerantes. *Tecnología y Ciencias del Agua*, 6(2), 21-34.
6. Anajalsa. (2016). *Ficha técnica de malathion 1000*. Jalisco, México.: Anajalsa agroquímicos. Recuperado de: [http://www.anajalsa.com.mx/pdf/ficha\\_23.pdf](http://www.anajalsa.com.mx/pdf/ficha_23.pdf).
7. Araújo, A. S., Monteiro, R. T. y Abarkeli, R. B. (2003). Effect of glyphosate on the microbial activity of two brazilian soils. *Chemosphere*, 52(2), 799-804.
8. Atlas, R. M. y Unterman, R. (1998). Bioremediation. En Demain, A. L., & Davies, J. E. (Ed.), *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology* (pp. 666-681). Washington, D.C., USA: SM Press.
9. Bakhshandeh, E., Rahimian, H., Pirdashti, H. y Nematzadeh, G. A. (2015). Evaluation of phosphate-solubilizing bacteria on the growth and grain yield of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in northern Iran. *Journal of Applied Microbiology*, 119(5), 1371-1382.

10. Bautista, J. E., Imbert, J. L., Veloz, M. A., Vázquez, R. A. y Gómez, J. V. (2015). Biodegradabilidad bacteriana de inhibidores de corrosión tipo imina quiral y predicción catabólica. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 31(4), 415-426.
11. Benitez, N., Vivas, D. H. y Rosero, E. D. (2009). Toxicidad de los principales plaguicidas utilizados en el municipio de Popayán, usando *Bacillus subtilis*. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 7(1),15-22.
12. Bhat, S. V., Sean, C., Booth, S. C., McGrath, S. G. y Dahms, T. E. (2015). *Rhizobium leguminosarum* bv. viciae 3841 adapts to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid with “Auxin-Like” morphological changes, cell envelope remodeling and upregulation of central metabolic pathways. *PLOS ONE*, 10(4), 1-21.
13. Bjarnsholt, T., Alhede, M., Eickhardt-Sørensen, S. R., Moser, C., Kühl, M., Jensen, P. y Holby, N. (2013). The in vivo biofilm. *Trends in Microbiology*, 21(9), 466-74.
14. Boivin, A., Amellal, S., Schiavon, M. y Van Genuchten, M. (2005) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) sorption and degradation dynamics in three agricultural soils. *Environmental Pollution*, 138(1), 92-99.
15. Bonilla, E., Hernández, F., Cortés, L., Mendoza, M., Mejía, J., Carrillo, E., Casas, E. y Betancourt, M. (2008). Effects of the insecticides malathion and diazinon on the early oogenesis in mice in vitro. *Environmental Toxicology*, 23(2), 240-245.
16. Boopathy, R. (2000). Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresource Technology*, 74(1), 63-67.
17. Bórtoli, P. V., Verdenelli, R. A., Conforto, C., Vargas Gil, S. y Meriles, J. M. (2012). Efectos del herbicida glifosato sobre la estructura y el funcionamiento de comunidades microbianas de dos suelos de plantaciones de olivo. *Ecología Austral*, 22(1), 33-42.

18. Bourquin, A. W. (1997). Degradation of Malathion by Salt-Marsh Microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 33(2), 356-362.
19. Bouzidi, N. y Gozzi, C. (2008). Experimental Design and Optimization: Application of a Grignard Reaction. *Journal of Chemical Education*, 85(11), 1544-1548.
20. Bravo, E., Sarma, S. S. y Nandini, S. (2014). Effect of malathion on the demography of *Daphnia pulex* Leydig and *Diaphanosoma birgei* Korinek (Cladocera). *Journal of Environmental Biology*, 35(1), 57-65.
21. Buendía, H. (2012). Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol. *Revista del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas*, 15(30), 123-130.
22. Calidad Tridente. (2017). *Ficha técnica de malathion 1000*. México. Recuperado de: <http://tridente.com.mx/2017/05/28/malation-1000/>
23. Carrillo, E., Ruiz, A. y Yeomans, H. (2004). Aislamiento, identificación y evaluación de un cultivo mixto de microorganismos con capacidad para degradar DDT. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 20(2), 69-75.
24. Castillo, R. D., Burbano, E. M., Otero, I. D. y Fernández, P. F. (2016). Degradación de oxalato por bacterias oxalotróficas asociadas a plantas del género *Oxalis* sp. en regiones andinas del departamento de Nariño, Colombia. *Revista Universidad y Salud*, 18(1), 69-78.
25. Castro, V., Masís, M., Carazo, E., Mora, M. y Rodríguez, C. E. (2018). Impact of oxytetracycline and bacterial bioaugmentation on the efficiency and microbial community structure of a pesticide-degrading biomixture. *Environmental Science and Pollution Research*. (in press).

26. Cava, F., de Pedro, M. A., Lam, H., Davis, B. M. y Waldor, M. K. (2011). Distinct pathways for modification of the bacterial cell wall by non-canonical D-amino acids. *The EMBO Journal*. 30(16), 3442–3453.
27. Cavalier, T. (2004). Only six kingdoms of life. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(1545), 1251-1262.
28. Cazar, R. A. (2011). Optimization of a UV-Visible Spectrophotometer Response Using a Fractional Factorial Design. *Avances en Ciencias e Ingenierías*. 3(2), 1-4.
29. Chapalamadugu, S. y Chaudhry, G. R. (1992). Microbiological and biotechnological aspects of metabolism of carbamates and organophosphates. *Critical Reviews Biotechnology*, 12(5-6), 357–389.
30. Choudhary, S., Raheja, N., Yadav, S. K., Kamboj, M. L., y Sharma, A. (2018). A review: Pesticide residue: Cause of many animal health problems. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(3), 330-333.
31. Costerton, J. W. (1999). Introduction to biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11(3-4), 217-221.
32. Dobšiková, R. (2003). Acute toxicity of carbofuran to selected species of aquatic and terrestrial organisms. *Plant Protection Science*, 39(3), 103-108.
33. DOF. (2000). *NOM-021-SEMARNAT-2000, Norma oficial mexicana, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. estudios, muestreo y análisis*. México.: Diario Oficial de la Federación. Recuperado de: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/rn/rn021-02.pdf>.
34. DOF. (2012). *Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente*. México.: Diario Oficial de la Federación. Recuperado de: <https://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/images/cibiogem/protocolo/LGEEPA.pdf>.

35. Dong, H., Peng, D., Jiao, X., Zhang, X., Geng, S. y Liu, X. (2011). Roles of the spiA gene from Salmonella enteritidis in biofilm formation and virulence. *Microbiology*, 157(6),1798-1805.
36. Dow AgroSciences (DOW). (2017). *Ficha técnica y etiqueta web de esteron 47M*. EU.: DOW. Recuperado de: <http://www.dowagro.com/es-mx/latamnorte/productos/proteccion-de-cultivos/herbicida/esteron-47-m>.
37. El-Sheekh, M. M., Ghareib, M. M. y Abou-El-Soud, G. W. (2012). Biodegradation of phenolic and polycyclic aromatic compounds by some Algae and Cianobacteria. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 3(1), 1-9.
38. FAO y OMS. (2015). *Comisión del codex alimentarius manual de procedimiento*. Roma, Italia: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
39. Felsot, A. S., Maddox, J. V. y Bruce, W. (1981). Enhanced microbial degradation of Carbofuran in soils with histories of Furadan use. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 26(1), 781-788.
40. Fernández, C., Llobregat, M. J., Bastidas, H. y Sien, B. (2009). Influencia de la *Eisenia foetida* y de Sustratos Orgánicos como Agentes Bioestimulantes en la Biodegradación de un Suelo Contaminado con Petróleo Pesado. *Información Tecnológica*, 20(5),19-30.
41. Flanagan, R. J., Meredith, T. J., Ruprah, M., Onyon, L. J. y Liddle, A. (1990). Alkaline diuresis for acute poisoning with chlorophenoxy herbicides and ioxynil. *The Lancet*, 335(8687): 454-458.
42. Fredrickson, J., Zachara, J., Balkwill, D., Kennedy, D., Li, S., Kostandarithes, H., Daly, M., Romie, M. y Brockman, F. (2004). Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the hanford site, Washington State. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(7), 4230-4241.

43. Furukawa, K. (2003). 'Super bugs' for bioremediation. *Trends Biotechnology*, 21(5), 187-190.
44. García, C. y Rodríguez, G. D. (2012). Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Ximhai*, 8(3b), 1-10.
45. García, J. A. (2007). *Biodegradación de fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuenciada* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.
46. Garza, C. V., Arzate, M. A. y Rico, R. (2017). Toxicity evaluation of cypermethrin, glyphosate, and malathion, on two indigenous zooplanktonic species. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(22), 18123-18134.
47. Gera, M., Kiran, R. y Mahmood, A. (2009). Subacute effects of carbofuran on enzyme functions in rat small intestine. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 19(2), 141-147.
48. Getzin, L. y Rosefield, I. (1968). Organophosphorus Insecticide Degradation by Heat-Labile Substances in Soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16(4), 598-601.
49. Gliessman, S. R. (2002). *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*. Turrialba, Costa Rica: CATIE.
50. Gliessman, S. R., Rosado-May, F. J., Guadarrama-Zugasti, C., Jedlicka, J., Cohn, A., Mendez, V. E., Cohen, R., Trujillo, L., Bacon, C. y Jaffe, R. (2007). Agroecología: promoviendo una transición hacia la sostenibilidad. *Ecosistemas*, 16(1), 13-23.
51. Gravina, F., Dobrzanska, T., Olchanheskib, L. R., Galvãoa, C. W., Rehec, P. M., Pileggia, S. A., Azevedod, R. A., Sadowskye, M. J. y Pileggia M. (2017). Metabolic Interference of sod gene mutations on catalase activity in *Escherichia coli* exposed to Gramoxone® (paraquat) herbicide. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 139, 89-96.

52. Griffiths, B. S., Ritz, K., Bardgett, R. D., Cook, R., Christensen, S., Ekelund, F., Sørensen, S. J., Bååth, E., Bloem, J., De Ruiter, P. C., Dolfing, J. y Nicolardot, B. (2000). Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity-ecosystem function relationship. *Oikos*, 90(2), 279–294.
53. Guerrant, G. O., Fetzer, L. E. y Miles, J. W. (1970). Pesticide residues in Hale County, Texas before and after ultra-low volume aerial application of malathion. *Pesticides Monitoring Journal*, 4(1), 14-20.
54. Gusse, A. C., Millar, P. D. y Volk, T. J. (2006). White-rot demonstrate first biodegradation of phenolic resin. *Environmental Science and Technology*, 40(13), 4196-4199.
55. Guzmán, A. M., Zambrano, D. E., Rivera, R. D., Rondón, A. J., Laurencio, M. y Pérez, M. (2015). *Aislamiento y selección de bacterias autóctonas de manabí-Ecuador con actividad celulolítica*. *Cultivos Tropicales*, 36(1), 7-16.
56. Hamed, H. S. (2015). Impact of a Short – Term Malathion Exposure of Nile Tilapia, (*Oreochromis niloticus*): The Protective Role of Selenium. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis*, 3(5-1), 30-37.
57. Hansen, M. (1990). *Escape del círculo vicioso de los plaguicidas: El reemplazo de los plaguicidas en los países en vías de desarrollo*. New York, USA: Consumers Union of United States.
58. Hernández, X. E. (1987). *Xolocotzia, Tomo II*. México, México: Universidad Autónoma de Chapingo.
59. Höltje, J. V. (1998). Growth of the stress-bearing and shape-maintaining murein sacculus of *Escherichia coli*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(1), 181-203.

60. Iannacone, J. y Tejada, M. (2007). Empleo de la regeneración de la planaria de agua dulce *Girardia festae* (Borelli, 1898) (Tricladida: Dugesiidae) para evaluar la toxicidad del carbofurano. *Neotropical Helminthology*, 1(1), 7-13.
61. Ibrahim, W., Karam, M., El-Shahat, R. y Adway, A. (2014). Biodegradation and Utilization of Organophosphorus Pesticide Malathion by Cyanobacteria. *BioMed Research International*, 2014, 1-6.
62. INECC (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático). Tecnologías de biorremediación. México: INECC y SEMARNAT. Recuperado de: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/372/tecnolog.html#top>.
63. Jaiswal, S. K., Siddiqi, N. J. y Sharma, B. (2013). Carbofuran imbalances of the redox status in rat brain: amelioration by vitamin C. *Journal of Biochemistry Research*, 1(4), 36-43.
64. Jones, D. M., Head, I. M., Gray, N. D., Adams, J. J., Rowan, A. K., Aitken, C. M., Bennett, B., Huang, H., Brown, A., Bowler, B. F., Oldenburg, T., Erdmann, M. y Larter, S. R. (2008). Crude oil biodegradation via methanogenesis in subsurface petroleum reservoir. *Nature*, 451(7175), 176-181.
65. Kamika, I. y Momba, M. (2013). Assessing the resistance and bioremediation ability of selected bacterial and protozoan species to heavy metals in metal-rich industrial wastewater. *BMC Microbiology*, 13(1), 13-28.
66. Kaur, M. y Sandhir, R. (2006). Comparative effects of acute and chronic carbofuran exposure on oxidative stress and drug metabolizing enzymes in liver. *Drug and Chemical Toxicology*, 29(4), 415-421.
67. Koranda, M., Kaiser, C., Fuchslueger, L., Kitzler, B., Sessitsch, A., Zechmeister-Boltenstern, S. & Richter, S. (2014) Fungal and bacterial utilization of organic substrates depends on substrate complexity and N availability. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(1), 142-152.

68. Kwakman, J. H. y Postma, P. W. (1994). Glucose kinase has a regulatory role in carbon catabolite repression in *Streptomyces coelicolor*. *Journal of Bacteriology*, 176(9), 2694-2698.
69. La Grega, M., Buckingham, P. y Evans, J. (2002). *Gestión de residuos tóxicos. Tratamiento, eliminación y recuperación de suelos*, Volumen II. Madrid, España: Mc. Graw Hill.
70. Laetz, C. A., Baldwin, D. H., Collier, T. K., Hebert, V., Stark, J. D. y Scholz, N. L. (2009). The synergistic toxicity of pesticides mixtures: implications for risk assessment and the conservation of endangered Pacific Salmon. *Environmental Health Perspectives*, 117(3), 348-353.
71. Lan, T. Q., Wei, D., Yang, S. T. y Liu, X. (2013). Enhanced cellulase production by *Trichoderma viride* in a rotating fibrous bed bioreactor. *Bioresource Technology*, 133, 175-182.
72. Ledebor, N. A. y Jones, B. D. (2005). Exopolysaccharide sugars contribute to biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on HEp-2 cells and chicken intestinal epithelium. *Journal of Bacteriology*, 187(9), 3214-3226.
73. Lee, K. Y., Bosch, J. y Meckenstock, R. U. (2012). Use of metal-reducing bacteria for bioremediation of soil contaminated with mixed organic and inorganic pollutants. *Environmental Geochemistry and Health*, 34(1), 135-142.
74. Lizhen, H., Degang, Z. y Cuicui, L. (2015). Isolation and 2,4-D-degrading characteristics of *Cupriavidus campinensis* BJ71. *Brazilian Journal of Microbiology*. 46(2), 433-441.
75. Loux, M. M., Liebl, R. A. y Slide, F. W. (1989). Adsorption of imazapyr and imazethapyr on soils, sediments, and selected adsorbents. *Weed Science*, 37(1), 712-718.

76. Madigan, M. T. y Marris, B. L. (1997). Extremophiles. *Scientific American*, 276(4), 82-87.
77. Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J. (2004). *Brock. Biología de los microorganismos*. Madrid, España: Prentice Hall Iberia.
78. Marcano, D. (2008). El lado positivo de las bacterias. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 39: 63-65.
79. Martínez, V. C. y Gómez, A. S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23(4), 185-200.
80. 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.
81. Mosquera, C. (2013). *Aislamiento e identificación de bacterias capaces de degradar cianuro presentes en muestras obtenidas del proceso de extracción de almidón de yuca* (Tesis de pregrado). Universidad ICESI, Santiago de Cali, Colombia.
82. Munshi, A. B., Detlef, S. B., Schneider, R. y Zuberi, R. (2004). Organochlorine concentrations in various fish from different locations at Karachi Coast. *Marine Pollution Bulletin*, 49, 597-601.
83. Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2014). *Microbiología médica*. Barcelona, España: ELSEVIER.
84. Narváez, S., Gómez, M. y Martínez, M. (2008). Selección de bacterias con capacidad degradadora de hidrocarburos, aisladas a partir de sedimentos del Caribe Colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 37(1), 61-75.

85. Nascimento, E. R. y Yamashita, O. M. (2009). Initial development of vegetable crops cultivated in soils with 2,4-d + picloram residues. *Semina: Ciências Agrárias*, 30(1), 47-54.
86. Neves, L. C., Miyamura, T. T., Moraes, D. A., Penna, T. C. y Converti, A. (2006). Bio - filtration methods for the removal of phenolic residues. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 129(1-3), 130-152.
87. Oanh, T. P., Damian, E., Bers, k., Tafese, T., Wattiez, R., Kohler, H. P., Springael, D. y De Mot, R. (2014). Genetic and metabolic analysis of the carbofuran catabolic pathway in *Novosphingobium* sp. KN65.2. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(19): 8235-8252.
88. Ochoa, V., Hinojosa, B., Gómez, B. y García, R. (2007). Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos. *Iniciación a la investigación*, 2, 1-10.
89. OMS (Organización Mundial de la Salud). (1992). *Consecuencias Sanitarias del Empleo de Plaguicidas en la Agricultura*. Ginebra, Suiza: OMS.
90. Ortiz, L. M., Ortiz, L. Y. y Chaves, G. (2013). Efecto de la aplicación de agroquímicos en un cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo. *Acta Agronómica*, 62(1), 66-72.
91. Ortiz, M. L. y Sánchez, E. (2010). Biodegradation of the organophosphate pesticide Tetrachlorvinphos by bacteria isolated from agricultural soils in México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(1), 27-38.
92. Paoletti, M.G. (1999). The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. *Agriculture Ecosystem and Environment*, 74(1-9), 137-155.
93. Paul, E. A. (2007). *Soil microbiology, ecology, and biochemistry*. Massachusetts, USA: ELSEVIER.

94. Pérez, S., Coto, O., Echemendía, M. y Ávila, G. (2015). *Pseudomonas fluorescens* Migula, ¿control biológico o patógeno?. *Revista de Protección Vegetal*, 30(3), 225-234.
95. Pimentel, D. y Lehman, H. (1993). The pesticide question. N.Y: Chapman and Hall. En Altieri, M. A., & Nicholls, C. I. (2000). *Agroecología. Teoría y práctica para una agricultura sustentable* (pp.117). Ciudad de México, México: PNUMA.
96. Possamai, F. P., Fortunato, J. J., Feier, G., Agostinho, F. R., Quevedo, J., Wilhelm Filho, D. y Dal-Pizzol, F. (2007). Oxidative stress after acute and sub-chronic malathion intoxication in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23(2), 198-204.
97. Potti, A., Panwalkar, A. y Langness, E. (2003). Prevalence of pesticides exposure in young males ( $\leq$  50 years) with adenocarcinoma of the prostate. *Journal of Carcinogenesis*, 2(1), 4-5.
98. Prakash, B., e Irfan, M. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* is present in crude oil contaminated sites of Barmer region (India). *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 2(5).
99. Quinchia, A. M., Gomez, F. A., Palencia, K. y Giraldo, C. E. (2006). Evaluación de la resistencia de un aislado bacteriano nativo compatible con *Pseudomona* sp. Al insecticida Lorsban 4 EC. *Escuela de Ingeniería de Antioquia*, 3(5), 101-108.
100. Quintero, J. C. (2011). Degradación de Plaguicidas Mediante Hongos de la Pudrición Blanca de la Madera. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 64(1), 5867-5882.
101. Racke, K. D. y Coats, J. R. (1990). *Enhanced biodegradation of pesticides in the environment*. Washington, D.C., USA: American Chemistry Society.
102. Ramanand, K., Panda, S., Sharmila, M., Adhya, T. K. y Sethunathan, N. (1988a). Development and acclimatization of Carbofuran-degrading soil

enrichment cultures at different temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(1), 200-205.

103. Ramanand, K., Sharmila, M. y Sethunathan, N. (1988b). Mineralization of Carbofuran by a Soil Bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(8), 2129-2133

104. Ramírez, C. G. (2005). *Las técnicas agroecológicas y su contribución al desarrollo rural en Vicente Guerrero, Españita, Tlaxcala* (Tesis de Pregrado), Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.

105. Rauglas, E., Martin, S., Bailey, K., Magnuson, M., Phillips, R. y Harper, W. F. (2016). The effect of malathion on the activity, performance, and microbial ecology of activated sludge. *Journal of Environmental Management*, 183, 220-228.

106. Rodríguez, R. y García, A. (2006). *Los residuos minero-metalúrgicos en el medio ambiente*. Madrid, España: Instituto Geológico y Minero de España.

107. Roso, L. A. (2011). *Aislamiento y evaluación de bacterias degradadoras de Pentolita, obtenidas a partir de muestras de suelos, agua y lodos con presencia de explosivos* (Tesis de pregrado), Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia.

108. Saier, M. H. y Reizer, J. (1992). Proposed uniform nomenclature of the proteins and proteins domains of the bacterial *phosphoenolpyruvate*: sugar phosphotransferase system based on structural, evolutionary and functional considerations. *Journal of Bacteriology*, 174(5), 1433-1438.

109. Salles, J. F., Samyn, E., Vandamme, P., Van Veen, J. y Van Elsas, J. D. (2006). Changes in agricultural management drive the diversity of *Burkholderia* species isolated from soil on PCAT medium. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(4), 661-673.

110. Sans, F. X. (2007). La diversidad de los agroecosistemas. *Ecosistemas*, 16(1), 44-49.

111. Sarkar, B., Chatterjee, A., Adhikari, S. y Ayyappan, S. (2005). Carbofuran and cypermethrin-induced histopathological alterations in the liver of *Labeo rohita* (Hamilton) and its recovery. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(2), 131-135.
112. Sarkar, R., Mohanakumar, K. P. y Chowdhury, M. (2000). Effects of an organophosphate pesticide, quinalphos, on the hypothalamo–pituitary–gonadal axis in adult male rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 118(1), 29-38.
113. Semple, K. T., Reid, B. J. y Fermor, T. R. (2001). Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution*, 112(2), 269-283.
114. Shah, S., Shah, R., Pawar, B. y Gayakar, P. (2015). UV-Visible spectroscopy. *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences*, 5(5), 490-505.
115. Shaner, D. L. y O'Connor, S. L. (1991). *The imidazolinone herbicides*. Madison, USA: CRC Press.
116. Smith, T. M. y Smith, R. L. (2007). *Ecología*. Madrid, España: PEARSON
117. SSA (Secretaría de Salud). (2010). *NORMA Oficial Mexicana NOM-232-SSA1-2009, Plaguicidas: que establece los requisitos del envase, embalaje y etiquetado de productos grado técnico y para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico*. México.: Diario Oficial de la Federación. Recuperado de: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5139018&fecha=13/04/2010](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5139018&fecha=13/04/2010).
118. SSA (Secretaría de Salud). (2012). *NOM-256-SSA1-2012, Condiciones sanitarias que deben cumplir los establecimientos y personal dedicados a los servicios urbanos de control de plagas mediante plaguicidas*. México.: Diario Oficial de la Federación. Recuperado de: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5286029&fecha=29/01/2013](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5286029&fecha=29/01/2013).

119. Stepanović, S., Ćirković, I., Ranin, L. y Svabić-Vlahović, M. (2004). Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Letters in applied microbiology*, 38(5), 428-432.
120. Tamburro, C. H. (1992). Chronic liver injury in phenoxy herbicide-exposed Vietnam veterans. *Environmental Research*, 59(1), 175-188.
121. Tazza, M. (2005). *Plaguicidas la-Ib en el Perú. Campaña para la prohibición y restricción de los plaguicidas extremada y altamente peligrosos*. Lima, Perú: Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA).
122. Torres, D. y Capote, T. (2004). Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosistemas*, 13(3), 2-6.
123. Tortora, G., Funke, B. y Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología*. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
124. Utz. (2015). *Lista de plaguicidas prohibidos y lista de plaguicidas en vigilancia*. Amsterdam, Holanda.: Departamento de Estándares y Certificación. Recuperado de: [https://utz.org/wp-content/themes/utz/download-attachment.php?post\\_id=5810](https://utz.org/wp-content/themes/utz/download-attachment.php?post_id=5810).
125. Van Camp, G., Gentile, A. R., Bujarrabal, B., Jones, R., Montanarella, L., Olazabal, C. y Selvaradjou, S. K. (2004). *Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
126. Van Deuren, J., Wang, Z. y Ledbetter, J. (1997). *Remediation technologies screening matrix and reference guide*. USA: Technology Innovation Office, EPA.
127. Vasdev, K. (2011). Decolorization of triphenylmethane dyes by six white-rot fungi isolated from nature. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 2(5), 1-5.

128. Vega, S. (1985). *Evaluación epidemiológica de riesgos causados por agentes químicos ambientales, Toxicología I*. Ciudad de México, México.: Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, OPS, OMS. Recuperado de: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/eco/016998/016998.htm>
129. Velasco, J, A. y Volke, T. L. (2003). El composteo: una alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México. *Gaceta Ecológica*, 1(66), 41-53.
130. Vollmer, W., Joris, B., Charlier, P. y Foster, S. (2008). Bacterial peptidoglycan (murein) hydrolases. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(2), 259-286.
131. Vorley, W. y Keeney, D. (1998). *Bugs in the System: Redesigning the Pesticide Industry for Sustainable Agriculture*. Londres, Reino Unido: Earthscan.
132. Wall, D. H. y Virginia, R.A. (2000). The world beneath our feet: soil biodiversity and ecosystem functioning. En Raven, P. H., Williams, T. (Ed.), *Nature and Human Society: the quest for a sustainable world* (pp. 225-241). Washington, D.C., USA: National Academy Press.
133. Xie, Z., Xu, B., Ding, J., Liu, L., Zhang, X., Li, J. y Huang, Z. (2013). Heterologous expression and characterization of a malathion-hydrolyzing carboxylesterase from a thermophilic bacterium, *Alicyclobacillus tengchongensis*. *Biotechnology Letters*, 35(8), 1283-1289.

### **XIII. Anexo**

Medio CAM (500 mL de solución de agar al 3 %, 500 mL del medio mineral basal que consta de 10 g del carbohidrato a evaluar, 5 g de NaCl, 1 g de  $K_2HPO_4$ , 1 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  y 1 g de  $(NH_4)_2SO_4$ ) la solución de agar se esteriliza a  $121^\circ C$  durante 15 minutos y el medio basal se esteriliza por filtración a través de una membrana Millipore 0.8 micras, se mezclan y vierten en cajas Petri.

Medio agar caseína consta de dos fracciones, fracción 1 (40 g de TSA en 500 mL más agar al 1.5 %), fracción 2 (20 g de leche descremada en 500 mL), cada fracción se esteriliza por separado a  $121^\circ C$  durante 15 minutos, se dejan enfriar a  $45^\circ C$ , se mezclan ambas fracciones y se vierte en cajas Petri.

Medio agar-glicerol (10 g de peptona, 5 g de NaCl, 0.1 g de CaCl, 0.1, 10 mL de glicerol y agar al 1.5 %) disolver en un litro de agua, pH final 7. Esterilizar a  $121^\circ C$  durante 15 minutos y verter en cajas Petri.

Medio DNase test agar. Suspender 42 g de la base en 1 litro de agua, mezclar bien, calentar agitando y hervir durante 1 minuto para disolver el polvo. Esterilizar a  $121^\circ C$  durante 15 minutos y verter en placas Petri.

Medio Mueller-Hinton. Suspender 38 g de la base en 1 litro de agua, calentar con agitación y hervir durante 1 minuto para disolver el polvo. Esterilizar a  $121^\circ C$  durante 15 minutos y verter en cajas Petri.