



Úrsulo Galván, Ver. 01/SEPTIEMBRE/2023  
OFICIO No. 140

ASUNTO: Autorización de Digitalización

C. MARICARMEN CERVANTES DOMINGUEZ  
N° CONTROL: 18883524  
CARRERA: LICENCIATURA EN BIOLOGIA  
PRESENTE

Por este conducto me dirijo a usted para comunicarle que su trabajo titulado: "BACTERIAS Y HONGOS REMEDIADORES DE GLIFOSATO AISLADOS DE SUELO CON CULTIVO DE CAÑA DE AZUCAR EN EL MUNICIPIO DE URSULO GALVAN". Como opción de Titulación integral mediante: TESIS PROFESIONAL después de haber sido revisado por su Asesor y los integrantes de la Comisión de Revisión y usted haber cumplido con todas las correcciones y los requisitos indispensables, ha sido autorizada su digitalización; por lo que deberá entregar a este Departamento un "Producto Formal de Titulación" de color NEGRO, debiendo presentarse en formato digital atendiendo a las instrucciones para tal efecto.

A T E N T A M E N T E  
Excelencia en Educación Tecnológica.  
Nuestro Esfuerzo es Progreso.

C. ABDUL DOMÍNGUEZ CAPISTRÁN  
JEFE DEL DEPTO. DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE URSULO GALVAN

DIVISION DE ESTUDIOS  
PROFESIONALES

C.c.p. Archivo  
ADC/mri\*





Úrsulo Galván, Ver, 01/septiembre/2023

ASUNTO: Liberación de Proyecto para Titulación integral.

ABDUL DOMÍNGUEZ CAPISTRÁN  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
P R E S E N T E

Por este medio le informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la Titulación integral

Nombre del Egresado	MARICARMEN CERVANTES DOMINGUEZ
Carrera:	LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
No. de Control	18883524
Nombre del proyecto	BACTERIAS Y HONGOS REMEDIADORES DE GLIFOSATO AISLADOS DE SUELO CON CULTIVO DE CAÑA DE AZUCAR EN EL MUNICIPIO DE URSULO GALVAN
Producto	TESIS PROFESIONAL

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

A T E N T A M E N T E  
Excelencia en Educación Tecnológica®  
"Nuestro esfuerzo es progreso"



ANA GRISEL HERNANDEZ VALLEJO  
JEFA DEL DEPTO. DE INGENIERÍAS

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE URSULO GALVAN

DEPTO. DE INGENIERIAS

 JACEL ADAME GARCIA	 FELIX DAVID MURILLO CUEVAS	 JOSE ANTONIO FERNANDEZ VIVEROS
Nombre y Firma del Asesor	Nombre y Firma del Revisor	Nombre y Firma del Revisor

C.c.p. Expediente





**EDUCACIÓN**  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO®

# INSTITUTO TECNOLÓGICO DE ÚRSULO GALVÁN

BACTERIAS Y HONGOS REMEDIADORES DE  
GLIFOSATO AISLADOS DE SUELO CON CULTIVO  
DE CAÑA DE AZÚCAR EN EL MUNICIPIO DE  
URSULO GALVAN.

TESIS PROFESIONAL

Presenta:

MARICARMEN CERVANTES DOMINGUEZ

Para obtener el título de:  
LICENCIADA EN BIOLOGIA

No. Control: 18883524

Úrsulo Galván, Ver., SEPTIEMBRE de 2023.

## RESUMEN

En la actualidad existen alternativas para disminuir o eliminar los contaminantes presentes en el suelo, como la biorremediación. La cual es el proceso que utiliza organismos vivos para absorber, degradar o transformar los contaminantes y retirarlos, inactivarlos o atenuar su efecto en el suelo, el agua y el aire (UE y OMS, 1999). En la zona de Úrsulo Galván, se realizó un muestreo del suelo para el aislamiento de bacterias y hongos usando el glifosato como fuente de carbono. El glifosato es uno de los ingredientes más comunes de los herbicidas empleados para combatir la maleza en el cultivo de caña de azúcar en el que el estado de Veracruz, es uno de los principales productores (Palmira, 2022). Aunque su uso es benéfico para este tipo de siembras, el glifosato afecta significativamente otras áreas agrícolas y la salud humana por sus efectos cancerígenos. La metodología comprendió el aislamiento de las bacterias, hongos y actinomicetos que tienen la capacidad de desarrollarse en medios de cultivo con altas concentraciones de glifosato, con el fin de tener opciones para disminuir el efecto negativo del herbicida en los suelos. Se inocularon muestras de suelo en medios de cultivo con diferentes concentraciones de glifosato, de las cuales se obtuvieron tres cepas bacterianas, a partir de cajas que según el conteo realizado la caja de la que se aisló la primera cepa tuvo una cantidad de 6000 UFC/g, mientras que la segunda caja de la que se seleccionó la cepa 2, tuvo 10,000 UFC/g y la tercera tuvo 12,000 UFC/g. Además, se puede afirmar que hay bacterias las cuales llegan a desarrollarse en medios de cultivo con una concentración de 12g/L de glifosato, lo que nos indica que estas son capaces de degradar este herbicida, por otra parte los hongos identificados que también degradan hasta 12 g/L y correspondieron a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Graphium*, y *Paecilomyces*. Por otra parte, actinomicetos que también se desarrollaron en medios ricos de glifosato 12g/L.

# Contenido

I.	INTRODUCCION.....	1
II.	ANTECEDENTES.....	3
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
IV.	OBJETIVOS .....	5
4.1	General.....	5
4.2	Particular .....	5
V.	PREGUNTA DE INVESTIGACION. ....	6
VII.	MARCO TEÓRICO .....	8
7.1	Contaminación de suelos .....	8
7.1.2	Contaminación de suelos por herbicidas.....	8
7.1.3	Contaminación de suelos por Glifosato .....	9
7.2	Herbicida.....	9
7.2.1	Glifosato y su descripción química .....	10
7.2.2	Glifosato y sus daños en el ambiente.....	10
7.2.3	Glifosato y sus daños en la salud .....	10
7.3	Biorremediación.....	10
7.3.1	Tipos de biorremediación .....	11
7.3.2	Biorremediación in situ .....	11
7.3.3.	Biorremediación ex situ .....	11
7.3.1	Biorremediación de Bacterias .....	12
7.3.2	Como degradan las bacterias el glifosato.....	12
7.4	Biorremediación de Hongos .....	12
VIII.	MATERIALES Y METODOS.....	14
8.1	Área de estudio .....	14

8.2	Muestreo .....	14
8.3	Preparación de diluciones .....	15
8.4	Preparación de Medio Mínimo Mineral .....	15
8.5	Inoculación del Suelo en el Medio .....	15
8.6	Condiciones de Incubación .....	15
8.7	Siembra de Bacterias .....	16
8.8	Siembra de hongos.....	17
IX.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	18
9.2	Aislamiento e identificación de hongos .....	21
X.	CONCLUSIONES .....	26
XI.	RECOMENDACIONES.....	27
XII.	FUENTES DE CONSULTA .....	28



## Índice de figuras

Figura 1. Área de estudio.....	14
Figura 2. Cepa 1 Glifosato en medio de cultivo 12g/l con una cantidad de 6000 UFC.....	18
Figura 3. Cepa 2 Glifosato en medio de cultivo 12 g/l con una cantidad de 10,000 UFC.....	19
Figura 4. Cepa 3 Glifosato en medio de cultivo 12 g/l con una cantidad de 12,000 UFC.....	20
Figura 5. Aislamiento de hongos y actinomiceto en medio PDA a 12g/L de Glifosato .....	21
Figura 6. Aspergillus .....	22
Figura 7. Penicillum .....	23
Figura 8. Graphium.....	23
Figura 9. Paecilomyces.....	24

## Índice de cuadros

Cuadro 1. Cantidad de cepas bacterianas (UFC/g) en diferentes concentraciones de glifosato	18
Cuadro 2. Cantidad de cepas bacterianas (UFC/g) en diferentes concentraciones de glifosato	18
Cuadro 3. Cantidad de cepas bacterianas (UFC/g) en diferentes concentraciones de glifosato.	20
Cuadro 4. Crecimiento de micelio en Milímetros .....	22



## **I. INTRODUCCION**

La contaminación de los suelos es uno de los procesos de degradación que desafortunadamente afecta a numerosos territorios en escala mundial. De ahí el creciente interés suscitado en las últimas décadas en conocer los tipos y fuentes de contaminación de suelo, así como los procesos y posibles soluciones que pueden adoptar para prevenir, mitigar, o remediar estos procesos de contaminación (Rodríguez Eugenio, Natalia; McLaughlin & Pennock, 2019)

El glifosato, que es el herbicida más usado mundialmente, interfiere en la síntesis de aminoácidos aromáticos esenciales, eliminando las plantas sensibles. Su uso aumentó al introducirse cultivos genéticamente modificados tolerantes al herbicida, y al usarse como desecante de cultivos anuales. El glifosato, clasificado como probable cancerígeno, ha generado efectos adversos en la salud humana y ha ejercido presión de selección generando plantas resistentes al herbicida. Las formulaciones comerciales contienen moléculas como polioxietilenaminas y metales pesados (González Ortega, E., & Fuentes Ponce, M. H. 2022).

En México no hay datos sobre la cantidad de glifosato empleado en la agricultura, pero se detectó en suelo, ríos y mares, así como en personas directa o indirectamente expuestas al herbicida. El glifosato y su metabolito ácido aminometilfosfónico (AMPA) tienen baja movilidad en los suelos por su alta capacidad de adsorción; su movilización y descomposición dependen de la estructura del suelo, cantidad y calidad de la materia orgánica, temperatura, pH, y tipo de arcilla, entre otros (González Ortega, E., & Fuentes Ponce, M. H. 2022).

En la actualidad existen alternativas para disminuir o eliminar los contaminantes presentes en el suelo, como la biorremediación. La cual es el proceso que utiliza organismos vivos para absorber, degradar o transformar los contaminantes y retirarlos, inactivarlos o

atenuar su efecto en el suelo, el agua y el aire. Para ello se usan diversos microorganismos que degradan los compuestos orgánicos mediante su metabolismo, se pueden emplear bacterias capaces de degradar las sustancias nocivas presentes en el suelo (UE y OMS, 1999).

Por lo que en este trabajo se pretende que a partir de muestras de suelos cultivados con caña de azúcar obtener bacterias y hongos con capacidad biorremediador de glifosato.

## II. ANTECEDENTES

El empleo de microorganismos autóctonos resulta viable para la degradación de plaguicidas, petróleo, y bioacumulación de metales pesados. Existe una gran variedad de microbiota en los suelos que se desean estudiar. Para la degradación del compuesto de interés se han realizado valiosos estudios para la obtención de cepas microbianas con la capacidad degradadora, dentro de los cuales destacan *Serratia marcescens*, *Penicillium sp.*, *Cupriavidus campinensis*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas sp.*, *Sphingomonas paucimobilis*, entre otras. (Rodríguez - Torres, 2018).

Se encontró que el organofosforado que más se ha estudiado es el clorpirifós (categoría toxicológica III) y los microorganismos que más se utilizan como biorremediadores de organofosforados son los géneros *Serratia*, *Bacillus* y *Pseudomonas*. Se concluye que el éxito de la biorremediación depende de la capacidad competitiva de los microorganismos, de la biodisponibilidad y la concentración del organofosforado, del pH, la temperatura y el tipo de suelo, así como de la presencia de suplementos nutricionales y de la concentración alta del inóculo (Hernández-Ruiz et al., 2017).

Existen varios microorganismos estudiados para la degradación de carbamazepina, que se resumen en la pudrición blanca que atacan a la madera y degradan la lignina (*Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Irpex lacteus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Gymnopilus luteofolius* y *Agrocybe erebia*, *Pleurotus ostreatus* y *Phanerochaete chrysosporium*, *Trichoderma harzianum*). También se emplean bacterias como *Pseudomonax putida* y *Labrys portucalensis*, que se adaptan a varias condiciones del ambiente, por lo que son capaces de degradar hidrocarburos y otros compuestos aromáticos para su crecimiento y mantenimiento (Morales-Méndez, 2021).

Numerosas bacterias se identificaron como degradadoras de distintos PAH incluyendo los géneros *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Cycloclasticus*, *Burkholderia*, *Rhodococcus*, *Polaromonas*, *Neptunomonas*, *Janibacter*, *Nocardia*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium*, *Stenotrophomonas* entre otras (Lu y col., 2011).

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El glifosato es un agroquímico que se utiliza en todo tipo de cultivo, ya que cualquier planta lo absorbe a través de sus tejidos. Su ingrediente activo hace que la planta no produzca la cantidad de proteínas necesarias para su desarrollo y finalmente la conduce a su eliminación. (Greenpeace México, 2020).

El glifosato es eficaz para la intervención de malezas, por el contrario, este genera emanación de gases el cual es contribuyente al efecto invernadero que está sedimentado en el suelo, a su vez socorre la erosión y esta abstrae al suelo de los nutrientes, dificultándole la absorción de agua y provocando escorrentías (Greenpeace México, 2020)

Según en la Revista "El ecologista" N°81 (2016). Cuando se penetra en el suelo el glifosato, es muy soluble en el agua y permanece de dos a seis meses en el suelo. Corrompe los mantos acuíferos ya que es dañino para la fauna acuática, los animales domésticos o el ganado y se esparce sin control por el subsuelo.

En 2015 la Organización Mundial de la Salud (OMS), clasificó el glifosato como "probablemente cancerígeno para los seres humanos", ya que encontró fuerte evidencia de que es cancerígeno para los animales, así mismo también supone que interviene negativamente en el sistema endocrino y que es tóxico para el aparato reproductor (Hortaliza, 2022)

En el caso del cultivo de caña de azúcar, el glifosato se utiliza para acelerar la maduración en la caña, ya que su uso como producto desecante permite el incremento de la sacarosa antes de ser cosechada. (CIATEJ, 2021).

## **IV. OBJETIVOS**

### **4.1 General**

Obtener bacterias y hongos con capacidad biorremediadora, de herbicida a base de glifosato a partir de suelos en los que se cultiva caña de azúcar.

### **4.2 Particular**

Aislar bacterias con capacidad biorremediadora, a partir de en los que se cultiva caña de azúcar.

Aislar hongos con capacidad biorremediador, a partir de suelos en los que se cultiva caña de azúcar e identificar por género los hongos aislados a partir de medios de cultivo con glifosato

## **V. PREGUNTA DE INVESTIGACION.**

¿Es posible a partir de suelos en los que se cultiva caña de azúcar obtener bacterias y hongos con capacidad biorremediadora para herbicidas a base de glifosato?

## **VI. HIPOTESIS**

A partir de suelos cultivados con caña de azúcar es posible obtener bacterias y hongos degradadores de Glifosato.



## **VII. MARCO TEÓRICO.**

### **7.1 Contaminación de suelos**

El suelo constituye uno de los recursos naturales más importantes, dado que gracias a él se realizan muchas funciones, entre las que destacan la producción de alimentos y en general su papel como sostén para la tierra y la vida.

Desafortunadamente las actividades antropogénicas ocasionan la degradación de este por lo que hay pérdida de productividad y/o fertilidad (Jiménez Ballesta, R., 2017).

Un suelo es contaminado ya que este presenta características que han sido alteradas ya sea física, química o biológicamente de una manera negativa, así mismo hace referencia a la acumulación en el mismo de compuestos tóxicos, ya sean químicos, sales, radioactivos, agentes que causan enfermedades, los cuales tienen efectos negativos en el hombre, en el crecimiento de las plantas, la salud de los animales y produce adversidad en el medio ambiente (Jiménez Ballesta, R., 2017).

#### **7.1.2 Contaminación de suelos por herbicidas**

Desde que se comenzaron a utilizar los herbicidas, su mal manejo ha provocado daños en el ambiente debido a sus características tóxicas, provocando contaminación del agua, aire y suelo, lo que produce cambios de forma negativa a los ecosistemas (Intagri, 2001).

Los herbicidas han atribuido a que distintos tipos de malezas sean resistentes, lo que provoca un incremento en los costos de producción. Así mismo, tienen efectos agudos y crónicos en la salud, debido a su grado de exposición inadecuado, siendo estas intoxicaciones un problema en la salud pública (CEDRSSA, 2020).

Un ejemplo claro son los Compuestos Orgánicos Persistentes (COP), debido a que, por su alta persistencia en el ambiente, son capaces de permanecer, transmitirse e incrementarse en los diferentes niveles de las cadenas alimenticias debido a su alta

toxicidad, lo cual ha generado una mayor preocupación porqueno existe un control en su uso (FAO, 2019).

Según Albert (2005) los estados que reportan el 80 por ciento del total de plaguicidas utilizados en México son Sinaloa, Chiapas, Veracruz, Jalisco, Nayarit, Colima, Sonora, Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México, Puebla y Oaxaca.

### **7.1.3 Contaminación de suelos por Glifosato**

El Glifosato tiene la capacidad de alterar del tejido vegetal (raíz) hacia el suelo e incrementa la persistencia de dos a seis veces en suelos debido a que antes se aplicó el herbicida por lo que en los que pudiesen existir restos de plantas a los que previamente se aplicó el herbicida (Doublet et al., 2009).

El glifosato una vez en el suelo se moviliza al competir por el fósforo por lo que se podría transferir de manera adicional del herbicida hacia plantas no consideradas, esto estará fuertemente influenciado por las características del suelo como potencial de fijación de fósforo, contenido de hierro disponible para la planta, pH, capacidad de intercambio catiónico, contenido de arena y materia orgánica del suelo (Bott et al., 2011).

## **7.2 Herbicidas**

Los herbicidas son importantes para todo el sector agropecuario, ya que controlan malezas de los cultivos, y también reducen las pérdidas en la producción de estos. (CEDRRSA, 2020).

Los herbicidas coadyuvan al combatir las enfermedades que se producen por insectos vectores, ya que estos en ocasiones se hospedan en los matorrales. Por lo tanto, debido a la toxinas de este y la presencia de sus componentes activos, la utilización de los herbicidas, así como cualquier plaguicida, es un riesgo para las personas que lo aplican a los cultivos, así como para quienes lo consumen (CEDRRSA, 2020).

### **7.2.1 Glifosato y su descripción química**

El glifosato es un aminofosfonato y un análogo del aminoácido natural glicina. Por lo que el nombre se deriva de la concentración glicina, fosfo y ato, partícula que designa a la base conjugada de un ácido. Actúa absteniendo la 5 enolpiruvilshiquimato 3 fosfato sintetasa (EPSPS) responsable de la enzima para la formación de los aminoácidos aromáticos los cuales son: fenilalanina, tirosina y triptófano. Su fórmula es  $C_3H_8NO_5P$ , mientras que su Densidad es de  $1.7 \text{ g/cm}^3$ , tiene una Masa molar de  $169.07 \text{ g/mol}$  y una Acidez de  $<2, 2.6, 5.6, 10.6 \text{ pKa}$  (Lumitos, 2023).

### **7.2.2 Glifosato y sus daños en el ambiente**

El glifosato es eficaz para el control de malezas, sin embargo su aplicación es perjudicial ya que libera gases que producen el efecto invernadero y están depositados en el suelo, y beneficia la degradación del suelo, por lo que, abstriene al suelo de los nutrientes, impide la absorción de agua y provoca escorrentías (Bayer, 2022).

### **7.2.3 Glifosato y sus daños en la salud**

En cuanto a los daños en la salud humana, tiene efectos crónicos agudos directos ya sea de este producto, de los agricultores o por la exposición de los habitantes. Sus efectos son como defectos de nacimiento, cáncer, neurológicos (se cree que puede provocar la enfermedad de Parkinson), por otro lado si se ingiere una gran cantidad, el glifosato puede causar náusea y vómito, puede ser muy irritante si se queda en la piel o los ojos, también tiene efectos respiratorios como es la irritación en la nariz o el asma (ATSDR, 2020).

## **7.3 Biorremediación**

La biorremediación es un procedimiento en el cual se emplean microorganismos para recuperar un medio ambiente alterado por contaminantes en su condición natural (USEPA, 2012)

La biorremediación, es el proceso que utiliza las habilidades catalíticas de los organismos vivos para degradar y transformar contaminantes tanto en ecosistemas terrestres como acuáticos, presenta un enorme potencial en la mitigación de la contaminación ambiental, además se ha centrado en la explotación de la diversidad genética y versatilidad metabólica que caracteriza a las bacterias para transformar contaminantes en productos inocuos o, en su defecto, menos tóxicos, que pueden entonces integrarse en los ciclos biogeoquímicos naturales. No obstante, existen casos aislados de utilización de otros tipos de organismos como, por ejemplo, los hongos y, más recientemente, las plantas la llamada fitorremediación (Garbisu, *et al*, 2002).

### **7.3.1 Tipos de biorremediación**

#### **7.3.2 Biorremediación in situ.**

Las técnicas de biorremediación in situ, son aquellas que se llevan a cabo en el mismo lugar donde está el contaminante, sin necesidad de trasladar el sustrato. Se emplea cuando hay una superficie extensa de agua o suelo involucrado en la contaminación. (USEPA, 2012).

La biorremediación in situ consiste en estimular a los microorganismos que habitan en el suelo contaminado mediante la aplicación de nutrientes y oxígeno. Este es un sistema muy similar a las técnicas convencionales de tratamientos biológicos para aguas residuales, en los cuales se agregan nutrientes y aire al desecho orgánico para facilitar la biodegradación en un reactor biológico. En este caso el biorreactor es el subsuelo; aunque no puede existir el mismo control en un reactor de aguas residuales que en el subsuelo, porque las muestras de suelo no son homogéneas como las de agua (UNAM, 2010).

#### **7.3.3. Biorremediación ex situ.**

Son aquellas técnicas de biorremediación, donde el agua o suelo contaminado se lleva para tratarlo en instalaciones específicas. A diferencia de la biorremediación in situ, esta técnica se emplea para superficies pequeñas. (USEPA, 2012).

La Biorremediación ex situ consiste en extraer el material y trasladarlo a otro lugar para realizar la descontaminación. Para ello existen distintos métodos: Landfarming, biopilas dinámicas, biopilas estáticas, etc. Se implementa en función de las características del suelo, el tiempo estimado de actuación, así como la tipología y distribución de la zona destinada al tratamiento. Para ello, es importante el diseño previo del sistema elegido, así como evaluar la existencia o no de microorganismos degradadores en el subsuelo. En función de todo esto se opta por la bioestimulación donde usualmente se potencia las condiciones adecuadas para los microorganismos autóctonos, por otra parte la bioaumentación inocula microorganismos degradadores no patógenos al subsuelo (Litoclean, 2023).

### **7.3.1 Biorremediación de Bacterias**

En biotecnología, la biorremediación de bacterias se lleva a cabo ya que aprovecha el potencial metabólico de las bacterias con la finalidad de transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples o casi nada contaminantes. (Darwinbioprospecting, 2020).

### **7.3.2 Como degradan las bacterias el glifosato**

Se lleva a cabo a través de 2 vías. La primera es la vía C-Piiasa, donde el glifosato se degrada a P5-fosforirribosil 1-difosfato (PRPP) y sarcosina y, posteriormente, a glicina y formaldehído, mientras que en la vía AMPA se produce glioxilato y ácido amino-metil-fosfónico (AMPA), siendo esta la vía mayoritaria de degradación. (Singh *et al.*, 2020).

## **7.4 Biorremediación de Hongos**

La Micorremediación utiliza la capacidad bio-transformadora de los hongos, ya que se basa en su propio funcionamiento metabólico y/o enzimático en la naturaleza, ya que el material considerado como residuo tóxico es degradado a través de los hongos hasta liberar sus componentes, ya inocuos, a la naturaleza. (Biomar MT, 2019).

Hay una diversidad de efectos del herbicida glifosato sobre especies de hongos del suelo. Existe

un número limitado de reportes sobre especies fúngicas capaces de degradar compuestos organofosfatados (como el glifosato) y desarrollarse en medio de cultivos que contengan este químico y lo usen como fuente de carbono y fósforo. Entre las especies más frecuentemente estudiadas se encuentran *Aspergillus flavus*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride*, *Penicillium waksmanii*, *Penicillium lilacinum*, *Mucor* spp., *Fusarium* spp. Y *Saccharomyces rouxii* ( Zheng et al. 2013).

## VIII. MATERIALES Y METODOS

### 8.1 Área de estudio

El trabajo se desarrolló en el Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván. Ubicado en las coordenadas 19°24' 51.90"N a 96°21'16.93"O msnm.



Figura 1. Área de estudio

### 8.2 Muestreo

Se muestreo a través de cinco de oros en este se consideró el campo de cultivo y se indicaron las cuatro esquinas y el centro. Se obtuvieron las muestras de suelo, cavando un orificio de 25x25x25 cm y las muestras de suelo se colocaron en bolsas de plástico, se etiquetaron y se transportaron al laboratorio de Biología Molecular.



### **8.3 Preparación de diluciones**

Se prepararon cuatro matraces con 90mL de solución de fosfatos y se esterilizó en el autoclave, mientras se esterilizaba la solución de fosfatos se tamizó el suelo con un tamiz o colador de malla la cual medía 2mm aproximadamente, una vez tamizado el suelo se pesó en la balanza analítica 10g de este, se vertieron los 10g de suelo en los matraces con 90mL solución de fosfatos ya esterilizada en la campana de flujo laminar y se agitó hasta disolver.

### **8.4 Preparación de Medio Mínimo Mineral**

Se pesaron en la balanza analítica 0.36g de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.1125 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.108g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.036 g de  $\text{MgSO}_4$  y 0.27g de  $\text{CaCl}_2$  y se vertió en matraces con 90mL de agua destilada y se esterilizó en la autoclave.

### **8.5 Inoculación del Suelo en el Medio**

Una vez estéril el medio mínimo mineral en la campana de flujo laminar se añadieron 1 g/L, 3 g/L, 6 g/L y 12 g/L de ácido glifosato a los matraces del medio mínimo mineral y se agitó hasta que estos se disolvieron, posteriormente con un tubo de ensayo se tomó 10ml de la solución de fosfatos y se vertió en los matraces con el medio mínimo mineral, posteriormente los matraces se colocaron en una incubadora de agitación a 120 revoluciones por minuto a una temperatura de 30°C durante 12 días.

### **8.6 Condiciones de Incubación**

Para las bacterias las cajas se incubaron de 3 a 5 días a 30°C en estufa de incubación. Para los hongos de 3 a 7 días a 25°C en estufa de incubación.

## **8.7 Siembra de Bacterias**

Se prepararon tres medios de cultivo los cuales fueron medio mínimo mineral con agar bacteriológico, Luria Bertani y Agar Nutritivo, se esterilizaron en la autoclave junto con las cajas Petri para después poder sembrar en la campana de flujo laminar, a los medios de cultivo una vez estériles se les añadió dentro de la campana las siguientes concentraciones de ácido glifosato que fueron 1 g/L, 3 g/L, 6 g/L, 12g/L se agito hasta disolver y posteriormente se vertieron los medios de cultivo en las cajas Petri, una vez solidificado el medio de las cajas se agregaron 100µL del medio mínimo mineral que se agitó anteriormente (el que ya contenía bacterias) con una micro pipeta se toma una puntilla para con esta añadir los 100µL y mediante un triángulo de cristal el cual se esterilizo con el mechero de alcohol, se hizo un barrido sobre la caja en los cuatro puntos cardinales y de forma circular, finalmente se etiquetaba cada caja, se sellaba con Parafilm y finalmente las cajas sembradas se colocaban en una estufa incubadora a 30°C.

## **8.8 Siembra de hongos**

Se preparó un medio de cultivo PDA (Agar Dextrosa y Papa) una vez estériles las cajas y el medio de cultivo se llevaban a la campana donde se añadían las distintas concentraciones de ácido glifosato 1 g/L, 3 g/L, 6 g/L , 12g/L al medio de cultivo, se agitaba hasta disolver y para realizar la inoculación de los hongos, mediante un asa de siembra se calentaba en la flama del mechero al rojo vivo para esterilizar, se dejaba enfriar y se tocaba un punto de micelio crecido en la caja anterior y en la caja con el medio PDA se tocaba en el centro, finalmente se etiquetaba cada caja, se sellaba con Parafilm y finalmente las cajas sembradas se colocaban en una estufa incubadora a 25°C.

## IX. RESULTADOS Y DISCUSION

### 9.1 Aislamiento de bacterias

Se obtuvieron tres cepas bacterianas de las cuales según el conteo realizado la primera cepa tuvo una cantidad de 6000 UFC como se muestra en el Cuadro 1 y en la Figura 2.

Cuadro 1. Cantidad de cepas bacterianas (UFC/g) en diferentes concentraciones de glifosato

Glifosato (g/L)	Cantidad de bacterias (UFC/g)	
	Medio LB	Medio AN
1	110	2200
3	4000	2400
6	4000	1000
12	6000	5000



Figura 2. Cepa 1 Glifosato en medio de cultivo 12 g/L con una cantidad de 6000 UFC

Mientras que la segunda cepa tuvo 10,000 UFC como se visualiza en el Cuadro 2 y en la Figura 3.

Cuadro 2. Cantidad de cepas bacterianas (UFC/g) en diferentes concentraciones de glifosato

Glifosato (g/L)	Cantidad de bacterias (UFC/g)	
	Medio LB	Medio AN
1	4	2600
3	7	1300
6	800	2800
12	1000	10000

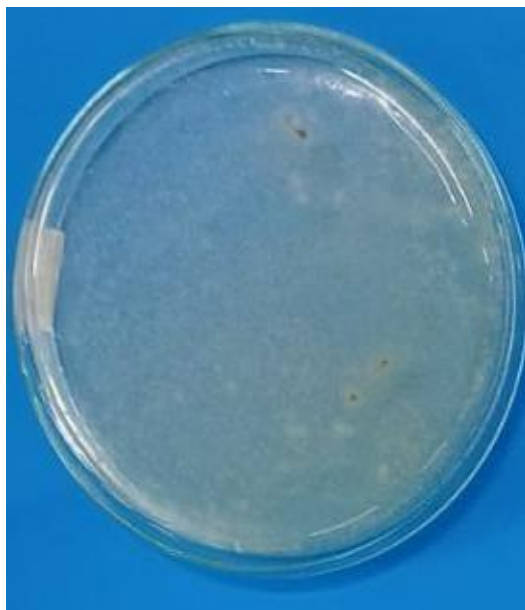


Figura 3. Cepa 2 Glifosato en medio de cultivo 12 g/l con una cantidad de 10,000 UFC

La tercera cepa tuvo 12, 000 UFC como están señaladas en el Cuadro 3 y la Figura 4. Estas cepas están en una concentración de 8.16g/L de glifosato.

Cuadro 3 Cantidad de cepas bacterianas (UFC/g) en diferentes concentraciones de glifosato

Glifosato(g/L)	Cantidad de bacterias (UFC/g)	
	Medio LB	Medio AN
1	300	2600
3	700	1300
6	3000	2800
12	10000	12000



Figura 4. Cepa 3 Glifosato en medio de cultivo 12 g/l con una cantidad de 12,000 UFC

Estos resultados concuerdan con lo publicado por Gómez (2018) quien aisló la bacteria *Serratia marcescens* cuya cepa degradó hasta 8.25mg/l.

Mendez-Villaquiran (2015) señala que según los resultados de su estudio mostraron que la aplicación de cantidades altas de glifosato puede alterar las actividades microbianas que crecen en tierras fértiles, aunque este efecto es menor debido a las concentraciones bajas ya que se encuentran un menor número de UFC/mL, así mismo cabe recabar que las bacterias que utilizan el glifosato como fuente de carbono removieron

aproximadamente el 55.0% del herbicida presente en la muestra; por lo cual da buenos indicios de la capacidad biodegradadora de estas bacterias y de su posible utilización en técnicas de biorremediación.

Martínez-Nieto (2012) y Liang (2020) reportaron que hay diversas especies de bacterias que tienen la capacidad de degradar el glifosato, tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Burkholderia gladioli*, *Flavimona soryzihabitans*. Además, *Bacillus cereus* CB4 se reportó con capacidad para degradar concentraciones hasta de 12 g/L (12,000 ppm) de glifosato en cultivo y, además, se identificaron las vías metabólicas relacionadas con la actividad de C-P liasa y de glifosato oxidoreductasa degradando el glifosato a AMPA, glioxilato, sarcosina, glicina y formaldehído como productos (Fan *et al.*, 2012).

Se aislaron 10 hongos y un actinomiceto los cuales se desarrollaron en un medio de cultivo PDA a 12g/L de glifosato como se puede observar en la Figura 5.

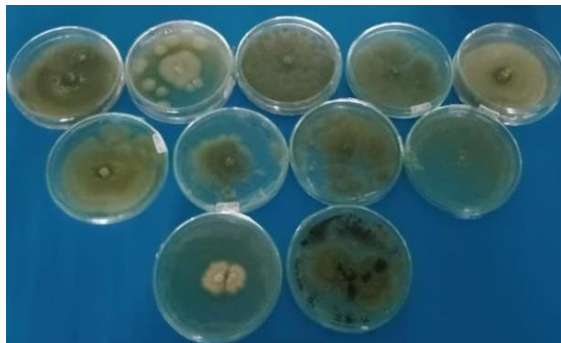


Figura 5. Aislamiento de hongos y actinomiceto en medio PDA a 12g/L de Glifosato

Estos hongos crecieron en cinco días alcanzando un diámetro máximo de 75mm como se observa en el Cuadro 4.



Cuadro 4. Crecimiento de micelio en milímetros

Hongos	Crecimiento de micelio en mm	
	Día 3	Día 5
1	11	40
2	10	55
3	12	70
4	11	75
5	37	75
6	10	75
7	11	75
8	9	75
9	18	75
10	20	75

Se identificaron los hongos a nivel género *Penicillium* sp. (Figura 6), *Aspergillus* sp. (Figura 7), *Graphium* (Figura 8), y *Paecilomyces* (Figura 9).



Figura 6. *Aspergillus* sp.

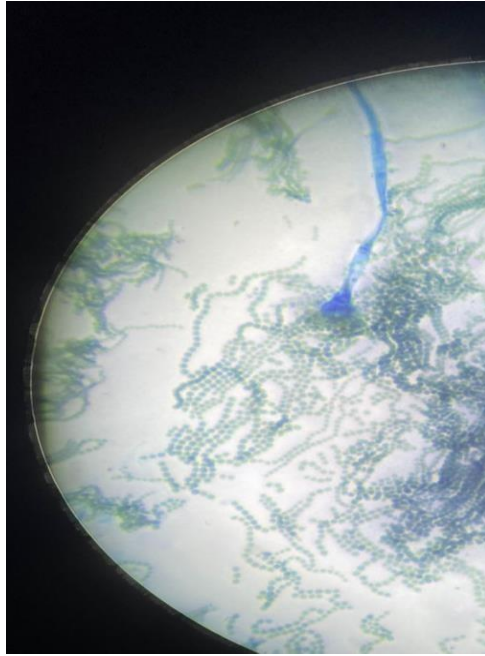


Figura 7. *Penicillium* sp.

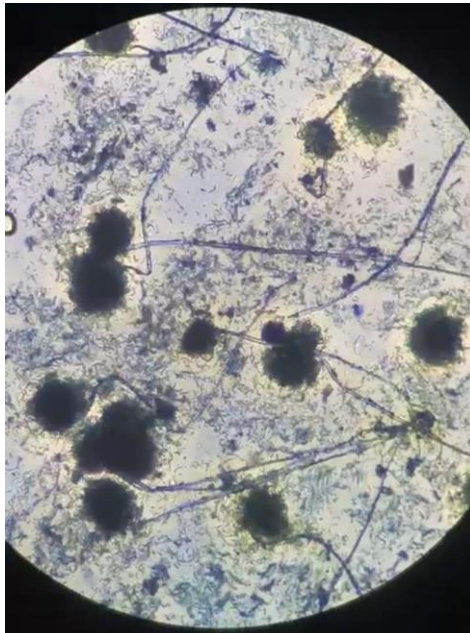


Figura 8. *Graphium* sp.

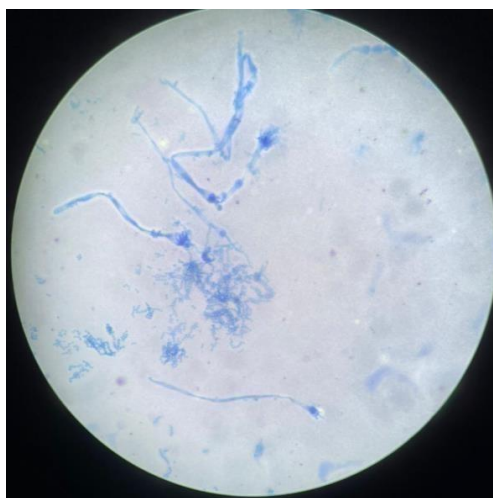


Figura 9. *Paecilomyces* sp.

Correa (2011) obtuvo 147 aislamientos encontrándose en mayor frecuencia las especies *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma koningii*, *Humicola grisea* y *Trichoderma harzianum*. Según sus estudios las especies predominantes fueron *Trichoderma harzianum* (47,13%) y *Fusarium* sp (11,49%) en el caso del lote con aplicación de glifosato y *Fusarium oxysporum* (31,51%); *Trichoderma* sp. (28,77%) y *Penicillium* sp. (8,90%) en el caso del suelo control.

Clavijo-López, Rocha-Salavarieta y Vives-Flores (2008) realizaron ensayos de aislamientos individuales fúngicos donde aislaron inicialmente 15 morfotipos los cuales fueron identificados hasta género por medio de morfología macro y microscópica. De estos 15 morfotipos, solo cinco lograron crecer en una concentración de 2000 mg/mL. Algunos de los morfotipos correspondieron a los géneros *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus*.

Por otra parte, Sánchez (2013) al realizar un aislamiento con *Paecilomyces* sp. y *Penicillium* sp. menciona que aunque el primero haya presentado mayor colonización del sustrato, la cantidad de CO<sub>2</sub> producida por el segundo fue más alta, lo cual se puede deber a diferentes factores como la compatibilidad del microorganismo con el sustrato, la

producción de enzimas o la naturaleza del residuo. Esto se corrobora con lo que proponen Camacho-Morales et al. (2017), sobre que la degradación del contaminante depende principalmente de la secreción de enzimas extracelulares por parte del hongo que por el crecimiento que se observe de este.

Estos resultados coinciden con Correa (2011) ya que una de las especies identificadas como controlador de glifosato fue el género *Penicillium*, mientras que Clavijo-López, Rocha-Salavarieta y Vives-Flores (2008) encontraron los géneros *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus* degradando 2 g de glifosato. Sin embargo los hongos obtenidos se puede comprobar que degradan hasta 12 g/L. Además Sánchez (2013) obtuvo *Paecilomyces* sp. Y *Penicillium* sp.

## X. CONCLUSIONES

Con base en los resultados se obtuvieron 3 cepas bacterianas de las cuales según el conteo realizado la primera cepa tuvo una cantidad de 6000 UFC, mientras que la segunda sepa tuvo 10,000 UFC y la tercera tuvo 12,000 UFC como están señaladas en los cuadros. Además se puede afirmar que hay bacterias las cuales llegan a degradar el glifosato con una concentración de 12g/L de Glifosato, lo que nos indica que estas son capaces de degradar esteherbicida, por otra parte los hongos identificados que también degradan hasta 12g/L son *Penicillum*, *Aspergillus*, *Graphium*, y *Paecilomyces*. Además los Actinomicetos también son degradadores del Glifosato ya que también degradan hasta 12g/L.

## **XI. RECOMENDACIONES**

- Identificar a nivel molecular las bacterias
- Identificar a nivel molecular los hongos
- Evaluar la resistencia de bacterias y hongos a mayor cantidad de dosis en glifosato.

## XII. FUENTES DE CONSULTA

1. Greenpeace México. (2020, 25 noviembre). Glifosato: herbicida peligroso para nuestra salud | Greenpeace – Greenpeace
2. México. <https://www.greenpeace.org/mexico/blog/9205/glifosato-herbicida-agente-cancerigeno/>
3. Festa, S. (2016). Biorremediación de suelos contaminados con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos: una visión molecular (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
4. Revista. (2016). El glifosato. Ecologistas en Acción.
5. Jiménez Ballesta, R. (2017). Introducción a la contaminación de suelos. Ediciones Mundi-Prensa.
6. Lazo, C., & Gamboa, N. (1997). Contaminación de suelos dedicados al cultivo de papas por pesticidas. Revista de Química, 11(1), 49-
7. Gutiérrez, H., & Arregui, M. C. (2000). Comportamiento de herbicidas en suelos, agua y plantas. Revista FAVE, 14(1), 73-89.
8. REM, Red de Conocimiento en Malezas Resistentes (2013): Manejo de Malezas Problema, Modo de acción herbicida. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Rosario, Santa Fe.
9. Glifosato. (s. f.).
10. ToxFAQs™: Glifosato (Glyphosate) | ToxFAQ | ATSDR. (s. f.)
11. Darwin Bioprospecting, & Darwin Bioprospecting. (2020, 21 octubre). ¿Qué es la biorremediación? - Darwin. Darwin
12. Roldán Barrientos, F. G., & Molina Gonzáles, M. G. (2021). Pseudomonas fluorescens aislada de humano: Mecanismos de la capacidad biorremediadora de Diése

13. Bacterias fijadoras de nitrógeno en agricultura, alternativa al uso de fertilización nitrogenada inorgánica - Ideagro. (2015, 22 marzo). Ideagro.
14. <https://ideagro.es/bacterias-fijadoras-de-nitrogeno-en-agricultura-alternativa-al-uso-de-fertilizacion-nitrogenada-inorganica/>
15. Barrantes, P. V., & Barquero, L. C. (2018). Aislamiento y evaluación de microorganismos solubilizadores de fósforo de Andisoles de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. <https://doi.org/10.15517/rac.v43i1.35649>





LICENCIA DE USO OTORGADA POR MARICARMEN CERVANTES DOMINGUEZ, de nacionalidad MEXICANA mayor de edad, con domicilio ubicado en Loc. Mata Verde, en mi calidad de titular de los derechos patrimoniales y morales y autor de la tesis denominada BACTERIAS Y HONGOS REMEDIADORES DE GLISOFATO AISLADOS DE SUELO CON CULTIVO DE CAÑA DE AZUCAR EN EL MUNICIPIO DE ÚRSULO GALVÁN en adelante "LA OBRA" quien para todos los fines del presente documento se denominará "**EL AUTOR Y/O EL TITULAR**", a favor del Instituto Tecnológico de ÚRSULO GALVÁN del Tecnológico Nacional de México, la cual se regirá por las clausulas siguientes:

**PRIMERA -OBJETO:** "**EL AUTOR Y/O TITULAR**", mediante el presente documento otorga al Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván del Tecnológico Nacional de México, licencia de uso gratuita e indefinida respecto de "LA OBRA", para almacenar, preservar, publicar, reproducir y/o divulgar la misma, con fines académicos, por cualquier medio en forma física y a través del repositorio institucional y del repositorio nacional, éste último consultable en la página: (<https://www.repositorionacionalcti.mx/>).

**SEGUNDA - TERRITORIO:** La presente licencia se otorga, de manera no exclusiva, sin limitación geográfica o territorial alguna, de manera gratuita e indefinida.

**TERCERA -ALCANCE:** La presente licencia contempla la autorización para formato uso de "LA OBRA" en cualquier formato o soporte material y se extiende a la utilización, de manera enunciativa más no limitativa a los siguientes medios: óptico, magnético, electrónico, virtual (red), mensaje de datos o similar conocido por conocerse en medio óptico, magnético, electrónico, en red, mensajes de datos o similar, conocido o por conocerse.

**CUARTA - EXCLUSIVIDAD:** La presente licencia aquí establecida no implica exclusividad en favor del Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván; por lo tanto, "**EL AUTOR Y/O TITULAR**" conserva los derechos patrimoniales y morales de "**LA OBRA**", objeto del presente documento.

**QUINTA - CRÉDITOS:** El Instituto Tecnológico de Úrsulo Galván y/o el Tecnológico Nacional de México reconoce que el "**AUTOR Y/O TITULAR**" es el único, primigenio y perpetuo titular de los derechos morales sobre "**LA OBRA**"; por lo tanto, siempre deberá otorgarle los créditos correspondientes por la autoría de la misma.

**SEXTA - AUTORÍA:** "**EL AUTOR Y/O TITULAR**" manifiesta ser el único titular de los derechos de autor que derivan de "LA OBRA" y declara que el material objeto del presente fue realizado por él, sin violentar o usurpar derechos de propiedad intelectual de terceros; por lo tanto, en caso de controversia sobre los mismos, se obliga a ser el único responsable.

Dado en la Ciudad de Úrsulo Galván, a los 01 días del mes de Septiembre de 2023.

"EL AUTOR Y/O TITULAR"  
(Nombre y firma)

MARICARMEN CERVANTES DOMINGUEZ

