

Identificación de microorganismos como potenciales biodegradadores de plásticos

Identification of microorganisms as potential biodegraders of plastics

Roger Alberto Rabelo-Florez¹; Gloria Gutiérrez de Piñerez-Ramírez²; Alexandra Rosmeri Sanjuan Arias³; Bernarda Soraya Cuadrado-Cano⁴; Laura Catalina Palacio Vásquez⁵, Huber Alexander Gómez Gómez⁶

Resumen

Introducción. El consumo desmedido de plásticos genera una contaminación ambiental, constituyéndose en un problema que va en aumento y genera impactos intergeneracionales.

Objetivo. El propósito de esta investigación fue evaluar el potencial biodegradador de las bacterias y hongos sobre el plástico, aisladas de envolturas dañadas por el tiempo a partir de los lugares de recopilación de basuras del municipio de Valledupar (Colombia).

Metodología. El enfoque de la investigación es cuantitativo. El diseño de investigación observacional, analítico, prospectivo y transversal. Se tomaron muestras de bolsas plásticas deterioradas por el tiempo, a una profundidad de 20 cm, se sembraron para preenriquecerlas en un medio de sales minerales por 45 días, en 3 temperaturas 30.5°C, 35.1°C y 27.3°C, luego se enriquecieron en un medio de compuestos inorgánicos a un pH 5, pH 7 y pH 8 por triplicado.

Resultados. Se observó que hubo biodegradación de plástico, en el 41,2 % de los cultivos de consorcio microbiano, seguido por igual (29.4 %) tanto en bacterias como en hongos. Las bacterias identificadas como potenciales biodegradadoras, son *Serratia liquefaciens* group, *Serratia marcescens* y *Klebsiella aerogenes* y los hongos *Trichosporon mucoides* y *Candida ciferrii*.

Conclusiones. Se logró identificar bacterias del género *Serratia* y *Klebsiella* y de hongos del género *Trichosporon* y *Candida*, con capacidad de biodegradación de plásticos. Este trabajo permite la facilidad de posteriores estudios de tipo bioprospectivo y determinación metabólica de los microorganismos aislados.

1. Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, CEAD Valledupar, Grupo de investigación TECNOSALUD, Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5247-8888>

2. Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Exactas, naturales y agropecuarias, Valledupar, Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6268-3933>

3. Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, CCAV Puerto Colombia, Grupo de investigación TECNOSALUD, Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6404-0958>

4. Universidad de Cartagena, Facultad de Medicina. Grupo de investigación GMSIS, Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6458-0134>

5. Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, CEAD Valledupar, Grupo de Investigación TECNOSALUD, Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2429-1557>

6. Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, CEAD Valledupar, Grupo de Investigación TECNOSALUD, Colombia.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7348-3598>

Correspondencia: roger.rabelo@unad.edu.co

Palabras clave: Bacterias, Biodegradación Ambiental, Hongos, Plásticos, *Serratia*, *Trichosporon*.

Abstract

Introduction. The excessive consumption of plastics generates environmental contamination, which is a growing problem and generates intergenerational impacts. **Objective.** The purpose of this research was to evaluate the biodegradative potential of bacteria and fungi on plastic, isolated from plastic wrappings damaged by time from garbage collection sites in the municipality of Valledupar. **Methodology.** The research approach is quantitative. The research design is observational, analytical, prospective and transversal. Samples were taken from plastic bags deteriorated by time, at a depth of 20 cm, were sown for pre-enrichment in a medium of mineral salts for 45 days, at three temperatures 30.5°C, 35.1°C and 27.3°C, then enriched in a medium of inorganic compounds at pH 5, pH 7 and pH 8 in triplicate. **Results.** Plastic biodegradation was observed in 41.2 % of the microbial consortium cultures, followed equally (29.4 %) in both bacteria and fungi. The bacteria identified as potential biodegraders were *Serratia liquefaciens* group, *Serratia marcescens* and *Klebsiella aerogenes* and the fungi *Trichosporon mucoides* and *Candida ciferrii*. **Conclusions.** It was possible to identify bacteria of the genus *Serratia* and *Klebsiella* and fungi of the genus *Trichosporon* and *Candida*, with the capacity to biodegrade plastics. This work allows for subsequent bioprospective studies and metabolic determination of the isolated microorganisms.

Keywords: Bacteria, Environmental Biodegradation, Fungi, Plastics, *Serratia*, *Trichosporon*.

Introducción

La producción mundial de plástico se ha triplicado en los últimos 25 años (1), aumentando exponencialmente su fabricación y alcanzando a nivel mundial una producción de 322 millones de toneladas en 2015

(2,3), para el año 2040 se estima en un promedio de 460 millones de toneladas (4). Asia es el principal país productor con un 50,1%, seguido de EE. UU, 18 %; Europa, 17 %; Oriente Medio-África, 7 % (5); y

América del sur el 5 % (6). Colombia, en el 2016 generó 9,5 millones de toneladas de residuos sólidos y de esos el 14% correspondió al polietileno (plástico) (7), es decir 460 millones de toneladas.

Al nororiente de Colombia se encuentra Valledupar, capital del departamento del Cesar, a orillas del río Guatapurí, limitado por la sierra nevada de Santa Marta al Oeste y la serranía del Perijá al Este (8). Se estima que en el departamento del Cesar y su capital Valledupar generan anualmente 31 mil y 13 mil toneladas de plásticos respectivamente (9).

El consumo desmedido de productos plásticos genera una contaminación ambiental, constituyéndose en un problema que va en aumento y genera impactos intergeneracionales (10,11). Lo anterior debido a las características del polietileno como la resistencia - peso, rigidez, flexibilidad, resistencia a la corrosión y durabilidad hasta más de 100 años (12,13).

Grandes cantidades de plásticos se encuentran en el ecosistema como productos de desecho industrial (3). Los polietilenos pueden afectar negativamente la vida marina, matando especies en la base de la cadena alimenticia hasta los animales más grandes de la tierra (14,15). Estos desechos alteran negativamente el crecimiento y la fotosíntesis de la cianobacteria *Prochlorococcus*, el cual es el microorganismo fotosintético

más abundante en la tierra (14,16) lo que podría disminuir la producción de oxígeno en el planeta. Se han encontrado restos de plásticos en el sistema digestivo y otros órganos en muchas especies marinas, terrestres y acuáticas, aumentando la posibilidad de la entrada de sustancias tóxicas a la cadena alimenticia que pueden ser nocivas para los humanos y los ecosistemas (17).

Como posible respuesta a este problema, se ha propuesto como solución la degradación biológica o biotransformación utilizando cepas microbianas aisladas (18–20) de plásticos enterrados en el suelo de lugares de depósito de basuras. Además, el tratamiento microbiológico genera gran atención por su ínfimo costo, buenos resultados y su inferior impacto ecológico (21). La biodegradación de plásticos, considerada un procedimiento más amigable con el medio ambiente, ha recibido mucha atención por parte de la comunidad científica (22,23) y. Los microorganismos utilizan su maquinaria enzimática para transformar los polímeros de plástico en moléculas y monómeros más pequeños (14). Y es por ello, que el propósito del presente estudio fue evaluar el potencial biodegradador de las bacterias y hongos sobre el Polietileno de Baja Densidad (PEBD), aisladas de envolturas plásticas dañadas por el tiempo a partir de los lugares de recopilación de basuras del municipio de Valledupar.

Metodología

Enfoque y diseño de la investigación

El enfoque de la investigación es cuantitativo. El diseño de investigación observacional, analítico, prospectivo y transversal.

Área de estudio

Las muestras de bolsas de plásticos se tomaron en mayo de 2022, en una zona de acceso libre donde se depositaban hasta ese momento residuos sólidos (basuras), ubicada en el sector aledaño a la Décima Brigada de Valledupar antes llamado Batallón “La Popa”, en los siguientes puntos: Muestra 1: 10°28'01.3"N 73°16'49.3"W; Muestra 2: 10°28'01.3"N 73°16'49.2"W; Muestra 3: 10°28'01.2"N 73°16'49.2"W. Las muestras de bolsas plásticas se tomaron a una profundidad del suelo de 20 cm aproximadamente. Porque a esa profundidad están presentes la mayoría de los microorganismos, luego se rotularon, colocaron en envases estériles y transportaron según metodología publicada y modificada (24,25).

Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD CEAD Valledupar en cinco fases, 1) Preenriquecimiento; 2) Aislamiento y enriquecimiento de microorganismos en pH 5, 7 y 8; 3) Prueba cuantitativa de degradación de PEBD a cada consorcio (24); 4) Prueba

cualitativa de degradación y 5) Identificación de bacterias y hongos.

Preenriquecimiento

Las muestras de PEDB se enjuagaron con una mezcla homogénea de agua y cloruro de sodio al 0,85 %, se secaron con papel absorbente estéril y cortaron con una tijera estéril en laminillas de 0,5 cm x 0,5 cm aproximadamente. 1 g aproximadamente de estas fue transferido a tres matraces: M1C, M2B y M3H (M: muestra; C: cultivo de consorcio; B: cultivo bacteriano; H: cultivo de hongos), para aislamiento de consorcio microbiano, de bacterias y de hongos respectivamente. Al M3H se le adicionó Cloranfenicol 0,1 g/L para inhibir el crecimiento bacteriano. A cada uno de los matraces se agregó 100 mL de Medio de Sales Minerales (MSM) constituido por: 0,5 g de $MgSO_4(7H_2O)$; 0,5 g de KH_2PO_4 ; 2,52 g de $Na_2HPO_4(12H_2O)$; 1 g de NH_4Cl ; 0,002 g de $CaCl_2$; 0,007 g de $MnSO_4(7H_2O)$; 0,001 g de $FeSO_4(7H_2O)$ y 0,007 g de $ZnSO_4(7H_2O)$ y extracto de levadura al 0,02% modificado de (24).

Los matraces M1C, M2B y M3H fueron incubados así, $30,5^\circ C \pm 2,03$; $35,1^\circ C$ (RIC: 34,95 a 36,00) y $27,3^\circ C \pm 1,48$ respectivamente según metodología modificada (6,28) por 45 días. Estas temperaturas se seleccionaron tratando de simular las condiciones del medio ambiente natural. Para el ajuste del pH se utilizó solución de ácidos y bases

inorgánicas diluidas según métodos modificados de varios autores (6,24,27)u+VNec-zsiyapnCDik4qNHKc8rbWc2L4uzTCD-G7gb3zoy0EyfUDv3LLz/8P3zgw7I=</data> * MERGEFORMAT.

Aislamiento y enriquecimiento de microorganismos en pH 5, pH 7 y pH 8

Cumplido el tiempo de incubación se procedió al aislamiento de los microorganismos. Se usaron bolsas plásticas como única fuente de carbono. Estas fueron desinfectadas en una solución de detergente e hipoclorito de sodio al 10% (v/v) durante 20 minutos y alcohol etílico de 70° durante 20 minutos, cortadas y pesadas antes de su uso.

En matraces y por triplicado se agregaron 100 mL de MSM y 0,02 g aproximadamente de láminas de 3 x 3 cm de las bolsas plásticas. Se ajustó el pH de cada solución a 5, 7 y 8, siendo inoculados con 10 mL del cultivo obtenido de M1C, M2B y M3H en la fase de pree enriquecimiento, siguiendo metodologías publicadas y modificadas (6,24,27,28) e incubando por 60, 90 y 120 días a 30,5°C para M1C; 35.1°C para M2B y 27,3°C para M3H.

Prueba cuantitativa de degradación de PEBD a cada consorcio

Según metodología modificada (6,24,28,29), luego del periodo de incubación de 60, 90 y 120 días, las láminas de PEBD se lava-

ron y se desinfectaron para eliminar el peso generado en la superficie y posteriormente fueron pesadas para poder determinar el peso perdido, utilizando la siguiente fórmula (30):

$$\%p\acute{e}rdida = \frac{(W_{inicial} - W_{final})}{W_{inicial}} \times 100 \quad (\text{Kyaw et al. 2012})$$

Prueba cualitativa de degradación de PEBD a cada consorcio

Cada lámina de plástico de los medios sembrados a diferente pH y por triplicado fueron observadas con microscopio de luz BioBlue modelo BB.4220LCD con aumento 40X, tomando fotos antes y después del proceso de biodegradación a fin de compararlas y registrar los cambios presentados en cuanto a porosidad, fisuras o grietas en las superficies según metodología modificada (31,32).

Identificación de bacterias y hongos

Completado la incubación, se tomó una muestra de los cultivos donde hubo mayor porcentaje de biodegradación y sembró por agotamiento hasta obtener cultivo axénico. Se empleó el agar nutritivo para el cultivo del consorcio y las bacterias y agar Sabouraud – glucosa al 2% para cultivar los hongos, siguiendo una metodología modificada (6,24,27). Las bacterias fueron visualizadas gracias a la coloración de Gram y los hongos con Azul de lactofenol. La identificación de los microorganismos aislados fue realizada en laboratorio externo (Laboratorios

Nancy Florez García S.A.S) mediante el sistema automatizado VITEK 2- dilución doble de microdilución en caldo.

Análisis estadístico

Con los datos recolectados se elaboró un banco de datos en Microsoft® Office Excel y analizaron con el programa IBM *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versión 25.0. Las variables cualitativas se presentan como proporciones y números absolutos y las cuantitativas con medidas de tendencia central (media o mediana) y dispersión (desviación estándar (DS) o rango intercuartílico (RIC)) según la normalidad calculada con la prueba de Shapiro Wilk. Para el análisis bivariado se empleó la prueba de Chi cuadrado o Exacta de Fisher para variables cualitativas y en el caso de las cuantitativas, la prueba de Wilcoxon con una significancia estadística de $p < 0,05$.

Desde el punto de vista ético, para el tratamiento de las muestras de plásticos y los microorganismos aislados, los laboratorios participantes cuentan con las instalaciones y equipos con las normas técnicas a fin de garantizar el manejo seguro de los cultivos y residuos biológicos generados.

Resultados

Se analizó un total de tres muestras de bolsas plásticas, obtenidas del suelo y sembradas por triplicado en tres condiciones diferentes de temperatura y pH, las cuales se llevaron hasta la fase de evaluación del porcentaje de biodegradación del PEBD, seleccionándose al final el cultivo, donde se presentó mayor valor a fin de realizar la evaluación microscópica e identificación de los microorganismos presentes.

Fase de preenriquecimiento

Pasado el tiempo de incubación de 45 días a las temperaturas mencionadas en la metodología, se observó la aparición de enturbiamiento de los cultivos.

Fase de aislamiento y enriquecimiento de microorganismos en pH 5, pH 7 y pH 8

Las temperaturas promedio para cultivo del consorcio microbiano (M1C) y bacterias (M2B) fueron de 28,8°C (RIC: 26,35 a 31,00) y de los hongos (M2B) de 25,2 (RIC: 24,50 a 27,00).

Al inicio de la incubación, los fragmentos de plástico permanecían suspendidos en la superficie de los caldos. A los 29 días se observó mayor enturbiamiento en los matracas de M1C a pH 5 y 7; en M2B a pH 5 y 8 y en M3H a pH 5 y 7. Únicamente a los

40 días en los matraces de M1C y M3H los fragmentos de plásticos precipitaron al fondo. En el caso de la muestra M2B, se observó un pigmento negrozco al fondo del vaso, adheridos al plástico, mientras que la muestra M3H se observó un pigmento de color amarillo. Al finalizar el periodo de aislamiento a los 120 días todos los fragmentos de plástico precipitaron con enturbiamiento del caldo de cultivo.

Fase de prueba cuantitativa de biodegradación de PEBD a cada consorcio.

En la Tabla 1, de manera global se observa que hubo biodegradación de PEBD, inde-

pendientemente del porcentaje, en el 41,2 % de los cultivos de consorcio microbiano (M1C), seguido por igual (29,4 %) tanto en bacterias (M2B) como en hongos (M3H), sin diferencias estadísticamente significativas según cultivo, pH y temperatura de incubación ($p = 0,530$).

Tabla 1. Muestras con mayor porcentaje de biodegradación de PEBD a los 120 días

Muestra	Tipo de cultivo	% Biodegradación	Número de días	No. bolsa
M1C 31°C pH 5	Consorcio	7,4	120	Bolsa 2
M1C 31°C pH 5	Consorcio	41,3	60	Bolsa 3
M1C 31°C pH 7	Consorcio	15,5	60	Bolsa 5
M1C 31°C pH 7	Consorcio	1,9	120	Bolsa 6
M1C 31°C pH 8	Consorcio	1,0	90	Bolsa 7
M1C 31°C pH 8	Consorcio	9,1	60	Bolsa 8
M1C 31°C pH 8	Consorcio	2,1	120	Bolsa 9
M2B 35°C pH 5	Bacteria	8,2	60	Bolsa 11
M2B 35°C pH 7	Bacteria	1,1	120	Bolsa 13
M2B 35°C pH 7	Bacteria	0,8	90	Bolsa 14
M2B 35°C pH 7	Bacteria	8,6	60	Bolsa 15
M2B 35°C pH 8	Bacteria	1,8	120	Bolsa 17
M3H 25°C pH 5	Hongo	2,7	120	Bolsa 19
M3H 25°C pH 5	Hongo	9,0	90	Bolsa 21

Muestra	Tipo de cultivo	% Biodegradación	Número de días	No. bolsa
M3H 25°C pH 7	Hongo	6,8	90	Bolsa 22
M3H 25°C pH 7	Hongo	12,7	120	Bolsa 24
M3H 25°C pH 8	Hongo	1,1	120	Bolsa 26

Fuente: Elaboración propia.

Analizando cuantitativamente el porcentaje de biodegradación, según cada tipo de cultivo *vs.* el tiempo de retirada en días, se observaron diferencias estadísticamente independientemente del grupo aislado ($p = 0,008$), al igual que con la temperatura de incubación ($p < 0,05$). Con respecto al pH *vs.* el porcentaje solo hubo diferencias para

bacterias ($p = 0,021$) pero no para el consorcio ($p = 0,678$) y hongos ($p = 0,066$).

De las muestras con mayor porcentaje de biodegradación de PEBD, se hicieron siembras y recuperaron microorganismos a fin de continuar con el proceso de evaluación microscópica e identificación microbiana, Tabla 2.

Tabla 2. Muestras con mayor porcentaje de biodegradación de PEBD a los 120 días.

Muestra	Tipo de cultivo	% Biodegradación	No. Bolsa
M3H 25°C pH 7	Hongos	13	Bolsa 24
M1C 31°C pH 5	Consorcio	7	Bolsa 2
M3H 25°C pH 5	Hongos	3	Bolsa 19
M1C 31°C pH 8	Consorcio	2	Bolsa 9
M1C 31°C pH 7	Consorcio	2	Bolsa 6
M2B 35°C pH 8	Bacterias	2	Bolsa 17
M2B 35°C pH 7	Bacterias	1	Bolsa 13

Fuente: Elaboración propia

En el consorcio microbiano a 31°C a pH 5 a los 60 días, se observó mayor porcentaje de biodegradación, mientras que el cultivo de hongo a 25°C a pH 8 a los 120 días, tuvo menos porcentaje de biodegradación, Figura 1.

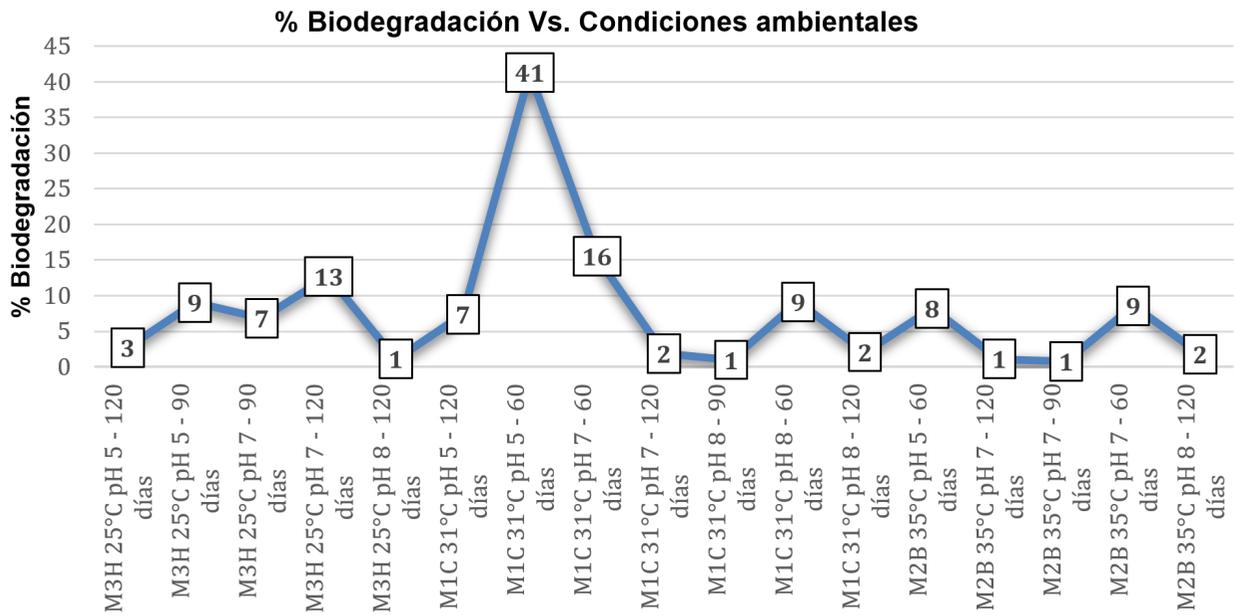


Figura 1. % Biodegradación Vs. Condiciones ambientales. M= muestra; H= hongo; C= consorcio; B= bacteria.

Fuente: Elaboración propia.

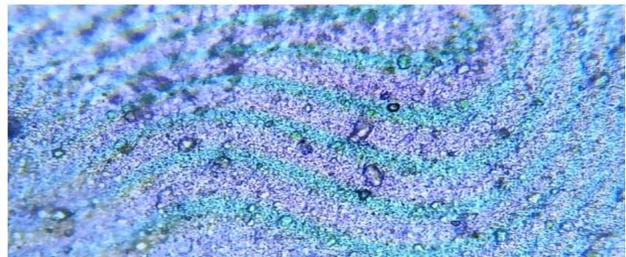
Fase de prueba cualitativa de degradación de PEBD a cada consorcio

En las microfotografías se observó la presencia de cambios entre los fragmentos de PEBD antes *vs.* después del proceso de

cultivo, lo que sugiere una alteración de la estructura que puede deberse a biodegradación del sustrato, Figura 2.



2A. Fragmentos sin cambios estructurales



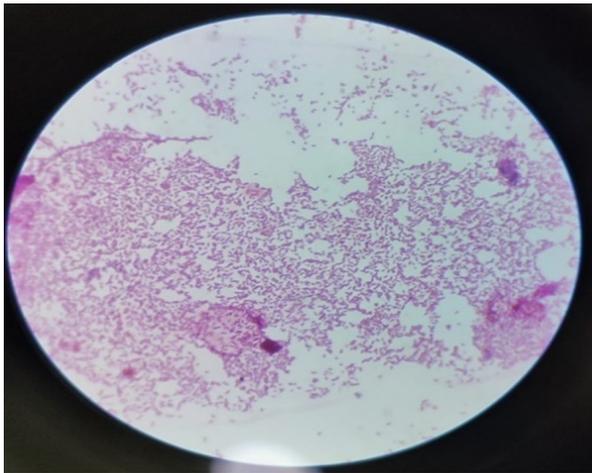
2B. Fragmentos con cambios estructurales

Figura 2. Microfotografía de los fragmentos de PEBD. Con el microscopio de luz con objetivo de 40X, previo al cultivo (2A) se observa el plástico sin biodegradación, en comparación con los fragmentos cultivados con consorcio, bacterias y hongos (2B) en donde se observan cambios del tipo agujeros y presencia de hifas. Fuente: Los autores.

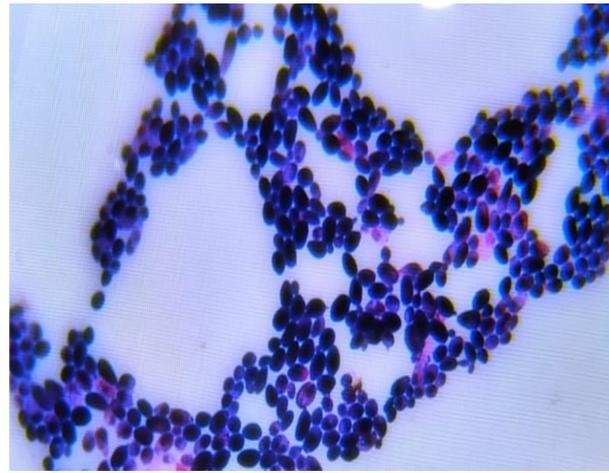
Fase de identificación de bacterias y hongos

Se identificaron los microorganismos aislados en el medio de cultivo en donde se obtuvo mayor porcentaje de biodegradación o sea los aislados de la muestra M3H 25°C pH 7, Tabla 3. En la tinción de Gram

se evidenció que las bacterias poseen pared celular Gram negativa y en la tinción con azul lactofenol, para hongos, se observaron levaduras, Figura 3.



3A. Bacterias con tinción de Gram



3B. Hongos levaduriformes

Figura 3. Bacterias Gram negativas (3A) y levaduras (3B) aislados de las películas de PEDB (Bolsa Nro. 24)

Tabla 3. Identificación de los microorganismos presentes en la película de PEDB (Bolsa Nro. 24) asociados al mayor porcentaje de biodegradación y cambios estructurales observados al microscopio.

Muestra	Bolsa	Bacterias	Hongo
M3H 25°C pH 7	24	<i>Serratia liquefaciens</i> group, <i>Serratia marcescens</i> y <i>Klebsiella aerogenes</i>	<i>Trichosporon mucoides</i> y <i>Candida ciferrii</i>

Fuente: Elaboración propia

Discusión

En la fase de pre-enriquecimiento de este estudio se observó turbiedad en el caldo mineralizado, esto coincide con las inves-

tigaciones realizadas por (6,24), evidenciando crecimiento de microorganismos con precipitación posterior del fragmento

de PEDB al fondo del vaso, indicando que la bacteria utiliza el PEBD como fuente de energía y carbono (25-34), lo anterior se infiere que, los microorganismos al ponerse en contacto con la superficie de plástico, aumentan el peso y por eso precipitan al fondo del vaso.

Con respecto a la biodegradación, se identificaron tres bacterias Gram negativas, *Serratia liquefaciens* group, *Serratia marcescens* y *Klebsiella aerogenes*, y dos hongos levaduriformes del tipo *Trichosporon mucoides* y *Candida ciferri*, los cuales fueron cultivados a 25°C y a un pH 7, con un porcentaje de biodegradación del 13%. Para el aislamiento de estas cepas (a partir del cultivo de enriquecimiento) se utilizó agar Sabouraud al 2% obteniendo crecimiento fúngico y bacteriano. A pesar de que es un medio que inhibe la mayoría de las bacterias, por la presencia del antibiótico cloranfenicol (35–37), en estudios previos se demostró que *S. liquefaciens* group es resistente a este antibiótico (37), al igual que *S. marcescens* (38) y *Klebsiella aerogenes* (39). El hallazgo de este tipo de bacterias en bolsas plásticas enterradas en el suelo es coherente por lo descrito previamente por Madigan, (40); y en el caso de los hongos coincide con otros reportes realizados por Cosio *et al.*, (41) y Pulpillo Ruiz *et al.*, (42,43), debido a que el suelo es el hábitat natural de estos microorganismos (44).

Los resultados obtenidos en la prueba cualitativa concuerdan con los registrados por

(45), donde se evidencian agujeros microscópicos producidos por la acción biodegradativa de los microorganismos. El porcentaje de biodegradación del plástico fue del 13% a un pH de 7 y temperatura de 25°C. Es posible que este porcentaje de biodegradación pueda deberse a que las condiciones del medio de cultivo no hayan sido las óptimas para el crecimiento de las bacterias, o que hubo una saturación de biodegradación de hidrocarburos (47-48), lo que condujo a una inhibición de dicha capacidad (46). Esto podría explicar el por qué se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el porcentaje de biodegradación según cada tipo de medio de crecimiento, la temperatura de incubación y el tiempo de finalización del cultivo.

En otras investigaciones relacionadas con este tema, se evidenció una degradación de 5,4 % por parte de bacterias (*Pseudomonas* sp., pH 7,0) y de 4,8 % por un consorcio de hongos (*Penicillium* sp., *Rhodotorula* sp., *Hyalodendron* sp., pH 5,5) (47). Por otro lado, en un estudio reciente se encuentra que *Serratia liquefaciens* biodegrada en cultivo axénico el poliuretano en un 54 % (48), sin embargo, el estudio no describe el pH ni la temperatura utilizada. El mismo autor en un reporte previo (31), utiliza la temperatura de 30°C evidenciando de manera cualitativa, la presencia de biodegradación del plástico, pero sin establecer un porcentaje que permita comparar con los resultados obtenidos.

Lou *et al.*, reporta que *Serratia marcescens* es capaz de biodegradar plástico en un 15,87 %, dentro del intestino de una larva de gusano de seda *Plodia interpunctella* y se utilizó un pH alcalino entre 8 a 10 considerando el pH del intestino de esta larva (49). Sin embargo, en otra investigación esta bacteria biodegrada polietileno en un 36 % a una temperatura de incubación de 30°C, a un pH 7 y temperatura de 25°C (50), aspectos que pudieron influir en el porcentaje de biodegradación del PEBD.

Para el caso de *Klebsiella aerogenes*, otra bacteria Gram negativa aislada en este estudio, en una investigación similar se encontró que el género *Klebsiella* logra biodegradar polietileno de alta densidad en un 18,4% a una temperatura de 30 °C (51–53).

En cuanto a *Trichosporon mucoides* también aislado en el presente estudio, se encuentra que utiliza el fenol como única fuente de carbono (54). En investigaciones anteriores se reporta que este hongo oxida y escinde el sistema de anillos aromáticos (55) EFORMAT, también oxida el fluoreno (56), y causan la degradación de hidrocarburos alifáticos (57). Por otro lado, en otro trabajo *T. mucoides* también logra biotransformar *p*-terc-amilfenol (58).

Según Hegazy *et al.*, se ha evidenciado que el género *Candida* posee una alta capacidad para biodegradar hidrocarburo y se describe que pueden crecer en un rango de pH de

4 a 11, siendo óptimo su crecimiento en el pH 4, dicho rango coincide con los datos obtenidos en la presente investigación, en donde se obtuvo crecimiento y acción biodegradativa a pH 7 (57).

Entre las principales limitaciones del estudio se encuentra la ausencia de una identificación taxonómica completa de los microorganismos aislados, especialmente en los consorcios microbianos, así como la aplicación de un preenriquecimiento bajo condiciones anaeróbicas, lo cual pudo sesgar la diversidad microbiana recuperada. No se evaluó la capacidad de biodegradación de cada cepa de forma individual, ni se caracterizaron físicoquímica y microbiológicamente los suelos de origen, lo que habría permitido contextualizar mejor las condiciones ambientales de las muestras. Adicionalmente, el análisis se realizó únicamente a partir del medio de cultivo, sin considerar los microorganismos adheridos a la superficie del plástico, lo que posiblemente afectó la recuperación de cepas en aquellos cultivos con mayores niveles de biodegradación.

Aunque hubo cultivos donde se observó mayor porcentaje de biodegradación (M1C 31°C pH 5 = 41,3 % y M1C 31°C pH 7 = 15,5%), no fue posible su aislamiento en medios sólidos y no pudieron recuperarse, ya que es probable que la actividad observada se debiera a condiciones especiales dadas en el cultivo en fase líquida y que no se

podieron reproducir en el medio sólido, tal como lo explican otros autores (58), ya que se pueden presentar dificultades en el cultivo “in vitro” por la existencia de simbiosis entre grupos de microorganismos.

Se concluye que los microorganismos *Serratia liquefaciens* group, *Serratia marcescens*, *Klebsiella aerogenes*, *Trichosporon mucoides* y *Candida ciferrii*, son microorganismos con potencial para biodegradar parcialmente el PEBD.

Este trabajo investigativo tiene como ventaja, que es un punto de partida para seguir investigando a *S. liquefaciens* group, *S. marcescens*, *K. aerogenes*, *T. mucoides* y *C. ciferrii* como potenciales biodegradadores de PEBD. Se sugiere investigar la capacidad de biodegradación sobre otros tipos de plásticos. Se requiere evaluar a futuro, si dicha actividad se debe a un efecto individual o que se potencializó por estar en consorcio, al igual que seleccionar las mejores condiciones en las cuales los microorganismos puedan tener un mejor desempeño metabólico.

Agradecimientos

Los investigadores de este estudio dan su agradecimiento a la UNAD, por su apoyo en la organización y contribución en especie de este proyecto.

Referencias

1. Feil A, Pretz T. Mechanical recycling of packaging waste. En: Plastic Waste and Recycling [Internet]. Elsevier; 2020. p. 283–319. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-817880-5.00011-6>
2. Al-Imara EA, Al-Mayyahi BA, Al-Ankush MAT, Al-Shatty SM. Biodegradation of oil-based plastic wastes by bacteria isolated from fish breeding tanks. Iraqi J Sci [Internet]. 2023 Feb 28;(64)2:513–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24996/ij.s.2023.64.2.2>
3. Muhonja CN, Makonde H, Magoma G, Imbuga M. Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya. PLoS One [Internet]. 2018 Jul 6;13(7):e0198446. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0198446>
4. Lau WWY, Shiran Y, Bailey RM, Cook E, Stuchey MR, Koskella J, *et al.* Evaluating scenarios toward zero plastic pollution. Science [Internet]. 2020 Sep 18;369(6510):1455–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1126/science.aba9475>
5. Arduoso M, Forero-López AD, Buzzi NS, Spetter CV, Fernández-Severini MD. COVID-19 pandemic repercussions on plastic and antiviral polymeric textile causing pollution on beaches and coasts of South America. Sci Total Environ [Internet]. 2021 Apr;763:144365. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144365>
6. Butron Pinazo SB. Capacidad de biodegradación de *Pseudomonas aeruginosa* frente al polietileno de baja densidad. Rev Investig [Internet]. 2022 May 17;9(3):134–47. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.26788/riepg.v9i3.2027>
7. Amar Gil S, Ardila Arias AN, Barrera Zapata R. Simulación y obtención de combustibles sintéticos a partir de la pirólisis de residuos plásticos. Ing Desarro [Internet]. 2019;37(2):306–26. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.14482/inde.37.2.1285>

8. Daza-Rodríguez ME, Daza-Porto MI, Pérez-Orozco AB. Servicio al cliente: una estrategia gerencial para incrementar la competitividad organizacional en empresas de Valledupar (Colombia). *AiBi Revista de Investigación, Administración e Ingeniería* [Internet]. 2017 Jan 1;5(1):20–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15649/2346030x.425>
9. Oliveros-Oliveros YS, Zambrano-Beltrán JB. Consecuencias económicas de la prohibición del Plástico en Colombia [Internet] [Trabajo de pregrado]. Bogotá, Colombia: Univ Católica de Colombia; 2020 [citado 2024 Jun 16]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/10983/25520>
10. Lestari P, Trihadiningrum Y. The impact of improper solid waste management to plastic pollution in Indonesian coast and marine environment. *Mar Pollut Bull* [Internet]. 2019 Dec;149:110505. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110505>
11. Li X, Tian Y, Xu C, Cheng B. The impact of marine pollution control on the output value of marine fisheries based on the spatial econometric model. *J Coast Res* [Internet]. 2019 Dec 27;(98 sp1):381. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2112/si98-088.1>
12. Andrady AL, Neal MA. Applications and societal benefits of plastics. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* [Internet]. 2009 Jul 27;364(1526):1977–84. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2008.0304>
13. Zadjelovic V, Erni-Cassola G, Obrador-Viel T, Lester D, Eley Y, Gibson MI, *et al.* A mechanistic understanding of polyethylene biodegradation by the marine bacterium *Alcanivorax*. *J Hazard Mater* [Internet]. 2022 Aug;436:129278. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129278>
14. Gambarini V, Pantos O, Kingsbury JM, Weaver L, Handley KM, Lear G. PlasticDB: a database of microorganisms and proteins linked to plastic biodegradation. *Database (Oxford)* [Internet]. 2022 Mar 1;2022. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/database/baac008>
15. Zantis LJ, Carroll EL, Nelms SE, Bosker T. Marine mammals and microplastics: A systematic review and call for standardisation. *Environ Pollut* [Internet]. 2021 Jan;269:116142. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116142>
16. Tetu SG, Sarker I, Schrameyer V, Pickford R, Elbourne LDH, Moore LR, *et al.* Plastic leachates impair growth and oxygen production in *Prochlorococcus*, the ocean's most abundant photosynthetic bacteria. *Commun Biol* [Internet]. 2019 May 14;2(1): [e42003-0410-x]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s42003-019-0410-x>
17. Arias VCA. Estudio de la biodegradabilidad y ecotoxicidad de plásticos oxodegradables de mayor uso en Colombia [Internet] [Doctorado en Ciencias e Ingeniería Ambientales]. México: U AM; 2018 [citado 2024 Jun 17]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11191/6130>
18. Martín PA. Estudio preliminar de la biodegradación de plásticos por bacterias marinas [Internet] [Trabajo de pregrado]. La Laguna, España: Univ de La Laguna; 2017 [citado 2024 Aug 13]. Disponible en: <http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/5762>
19. Bedoya-Ciro CC, Estupiñán BLH. Evaluación in vitro de la capacidad biorremediadora de hongos filamentosos sobre petróleo crudo. *Nova* [Internet]. 2018 Sep 18;16(30):37–58. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.2834>
20. Cabrera Ospina M, Echeverri Jaramillo GE, Manjarrez Paba G. Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la Bahía de Cartagena, Colombia. *Nova* [Internet]. 2010 Jun 15;8(13):76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.441>
21. Echeverri Jaramillo GE. Adaptación de bacterias a diferentes concentraciones de fenol en el laboratorio: aspectos esenciales para un proceso de biodegradación. *Nova* [Internet]. 2011 Jun 15;9(15):60. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.489>
22. Zhou D, Chen J, Wu J, Yang J, Wang H. Biodegradation and catalytic-chemical degradation strategies to mitigate microplastic pollution. *Sustain Mater Technol* [Internet]. 2021 Jul;28:e00251. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.susmat.2021.e00251>
23. Liu L, Xu M, Ye Y, Zhang B. On the degradation of (micro)plastics: Degradation methods, influencing factors, environmental impacts. *Sci Total Environ* [Internet]. 2022 Feb 1;806(Pt 3):151312. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151312>

24. Gonzales Alcos VC. Capacidad biodegradativa de hongos filamentosos frente al polietileno. *Rev Investig* [Internet]. 2022 May 17;9(3):205–17. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.26788/riepg.v9i3.1625>
25. Benavides López de Mesa JL, Quintero GM, Ostos Ortiz OL. Aislamiento e identificación de diez cepas bacterianas desnitrificantes a partir de un suelo agrícola contaminado con abonos nitrogenados proveniente de una finca productora de cebolla en la Laguna de Tota, Boyacá, Colombia. *Nova* [Internet]. 2006 Dec 15;4(6):50. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.360>
26. Moreno Bayona DA. Biotransformación de polietileno de baja densidad (LDPE) y LDPE oxo-biodegradable empleando *Pleurotus ostreatus* y residuos lignocelulósicos de pino (*Pinus caribaea*) [Internet]: en Pedroza Rodríguez AM, Gómez Méndez LD, editores. Bogotá: Pontificia Univ Javeriana; 2018 [citado 2024 Mar 27]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/40333>
27. Uribe D, Giraldo D, Gutiérrez S, Merino F. Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú. *Rev Peru Biol* [Internet]. 2010;17(1):133–6 [citado 2024 Mar 27]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332010000100017&lng=es&tlng=en
28. Acuña MNR. Revisión Bibliográfica sobre los Microorganismos Biodegradadores de Polietileno de Baja Densidad LDPE y sus Efectos en el Material [Internet]. 2017 [citado 2023 May 1]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/11349/5608>
29. Espinilla PM. Estudio preliminar de la degradación de plásticos por poblaciones bacterianas presentes en suelo del Complejo Ambiental de Arico [Internet] [Pregrado]. La Laguna, España: Univ de La Laguna; 2017 [citado 2024 Jun 17]. Disponible en: <http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/5748>
30. Kyaw BM, Champakalakshmi R, Sakharkar MK, Lim CS, Sakharkar KR. Biodegradation of low density polythene (LDPE) by *Pseudomonas* species. *Indian J Microbiol* [Internet]. 2012 Sep;52(3):411–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12088-012-0250-6>
31. Azeko ST, Etuk-Udo GA, Odusanya OS, Malatesta K, Anuku N, Soboyejo WO. Biodegradation of Linear Low Density Polyethylene by *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* and its Cell Free Extracts. *Waste Biomass Valorization* [Internet]. 2015 Dec;6(6):1047–57. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-015-9421-0>
32. Quishpe Coello LJ. Análisis de la composición química y determinación de la actividad antimicrobiana del extracto Fúngico de una especie del género *Cordyceps* [Internet] [Pregrado]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2022 [citado 2024 Oct 25]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/20385>
33. Quishpe Catota WR. Presencia de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp, en infecciones óticas y su susceptibilidad a los antimicrobianos en caninos [Internet] [Pregrado]. Univ Técnica de Cotopaxi; 2023. Disponible en: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10607>
34. Stock I, Grueger T, Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of strains of *Serratia marcescens* and the *S. liquefaciens* complex: *S. liquefaciens* sensu stricto, *S. proteamaculans* and *S. grimesii*. *Int J Antimicrob Agents* [Internet]. 2003 Jul;22(1):35–47. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579\(02\)00163-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-8579(02)00163-2)
35. Tavares-Carreón F, De Anda-Mora K, Rojas-Barrera IC, Andrade A. *Serratia marcescens* antibiotic resistance mechanisms of an opportunistic pathogen: a literature review. *PeerJ* [Internet]. 2023 Jan 5;11:e14399. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.14399>
36. Mariscotti JF, García Véscovi E. *Serratia marcescens* RamA expression is under PhoP-dependent control and modulates lipid A-related gene transcription and antibiotic resistance phenotypes. *J Bacteriol* [Internet]. 2021 Jun 8;203(13). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.00523-20>
37. Agyirifo DS, Mensah TA, Senya ASY, Assan M, Otwe EP. Antimicrobial susceptibility and resistance genes profiles in gram negative isolates from automated teller machines in Cape Coast, Ghana. *Afr J Biotechnol Sci* [Internet]. 2022 May 7;4(3):92–102. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.33472/afjbs.4.3.2022.92-102>

38. Madigan MT. Brock, biología de los microorganismos. 14ª ed. 2015. 1348 p.
39. Cosio T, Pica F, Fontana C, Pistoia ES, Favaro M, Valsecchi I, *et al.* *Stephanoascus ciferrii* complex: The current state of infections and drug resistance in humans. *J Fungi (Basel)* [Internet]. 2024 Apr 18;10(4):294. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/jof10040294>
40. Pulpillo Ruiz A, Sánchez Conejo-Mir J, Del Canto González S, Navarrete Ortega M, Pérez De Soto I. Infección sistémica por *Trichosporon asahii*. *Actas Dermosifiliogr* [Internet]. 2001 Oct;92(7-8):354-7. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0001-7310\(01\)79154-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0001-7310(01)79154-5)
41. Campuzano FSE, Urquijo TL, Valderrama J. Evaluación de la actividad celulolítica y quitinolítica de hongos filamentosos aislados de rizósfera de cultivos de papa para control de *Rhizoctonia solani*. *Nova* [Internet]. 2017 Oct 26;15(28):45. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.2078>
42. Samat AF, Carter D, Abbas A. Biodeterioration of pre-treated polypropylene by *Aspergillus terreus* and *Engyodontium album*. *NPJ Mater Degrad* [Internet]. 2023 Apr 14;7(1):? Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41529-023-00342-9>
43. Sepperumal U, Mark M, An. Growth of Actinomycetes and *Pseudomonas* sp., biofilms on abiotically pretreated polypropylene surface. *Eur J Zool Res* [Internet]. 2014 [citado 2024 Oct 25];3:6-17. Disponible en: <https://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/growth-of-actinomycetes-and-pseudomonas-sp-biofilms-on-abiotically-pretreated-polypropylene-surface.pdf>
44. Núñez R, Ortiz E, Fonseca EL, Barban O, Almazán V, Pizarro R, *et al.* Biorremediación de hidrocarburos de los sedimentos de la Bahía de La Habana. *Rev Cont Ed Prot Amb* [Internet]. 2002 [citado 2024 Jun 21];12(6):45-60. Disponible en: <http://hdl.handle.net/1834/2920>
45. Alvaro CES, Arocena LA, Martínez MÁ, Nudelman NES. Biodegradación aerobia de fracciones de hidrocarburos provenientes de la actividad petrolera en un suelo de la región Patagonia norte, Argentina. *Rev Int Contam Ambient* [Internet]. 2017 May 1;33(2):247-57. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.20937/rica.2017.33.02.06>
46. Salgado CA, Pereira Vidigal PM, Dantas Vanetti MC. Biodegradation of polyurethanes by *Staphylococcus warneri* and by microbial co-culture. *Chemosphere* [Internet]. 2024 Jul;359:142169. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142169>
47. Salgado CA, Silva JG, Almeida FA de, Vanetti MCD. Biodegradation of polyurethanes by *Serratia liquefaciens* L135 and its polyurethanase: In silico and in vitro analyses. *Environ Pollut* [Internet]. 2023 Sep;333:122016. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122016>
48. Lou H, Fu R, Long T, Fan B, Guo C, Li L, *et al.* Biodegradation of polyethylene by *Meyerozyma guilliermondii* and *Serratia marcescens* isolated from the gut of waxworms (larvae of *Plodia interpunctella*). *Sci Total Environ* [Internet]. 2022 Dec;853:158604. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158604>
49. Awasthi S, Srivastava P, Singh P, Tiwary D, Mishra PK. Biodegradation of thermally treated high-density polyethylene (HDPE) by *Klebsiella pneumoniae* CH001. *3 Biotech* [Internet]. 2017 Oct;7(5):? Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-017-0959-3>
50. Schlüter R, Dallinger A, Kabisch J, Dulldhardt I, Schauer F. Fungal biotransformation of short-chain n-alkylcycloalkanes. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2019 May;103(10):4137-50. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-019-09749-4>
51. Hammer E, Krowas D, Schäfer A, Specht M, Francke W, Schauer F. Isolation and characterization of a dibenzofuran-degrading yeast: Identification of oxidation and ring cleavage products. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 1998 Jun;64(6):2215-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aem.64.6.2215-2219.1998>
52. Sietmann R, Hammer E, Moody J, Cerniglia CE, Schauer F. Hydroxylation of biphenyl by the yeast *Trichosporon mucoides*. *Arch Microbiol* [Internet]. 2000 Nov 20;174(5):353-61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s002030000219>
53. Sietmann R, Hammer E, Specht M, Cerniglia CE, Schauer F. Novel ring cleavage products in the biotransformation of biphenyl by the yeast *Trichosporon mucoides*. *Appl Environ Microbiol* [Internet]. 2001 Sep;67(9):4158-65. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aem.67.9.4158-4165.2001>

54. Schlüter R, Schauer F. Biotransformation and detoxification of environmental pollutants with aromatic structures by yeasts. En: *Yeast Diversity in Human Welfare* [Internet]. Singapore: Springer Singapore; 2017. p. 323–69. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/978-981-10-2621-8_13
55. Rani MHS, Nandana RK, Khatun A, Brindha V, Midhun D, Gowtham P, *et al.* Three strategy rules of filamentous fungi in hydrocarbon remediation: an overview. *Biodegradation* [Internet]. 2024 May 11;? Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s10532-024-10086-1>
56. Schlueter R, Röder A, Czekalski N, Gliesche D, Mikolasch A, Schauer F. Novel mechanisms of biotransformation of p-tert-amylphenol by bacteria and fungi with special degradation abilities and simultaneous detoxification of the disinfectant. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2014 Jan;98(1):373–84. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-013-5312-0>
57. Hegazy GE, Soliman NA, Farag S, El-Helow ER, Yusef HY, Abdel-Fattah YR. Isolation and characterization of *Candida tropicalis* B: a promising yeast strain for biodegradation of petroleum oil in marine environments. *Microb Cell Fact* [Internet]. 2024 Jan 13;23(1):?. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12934-023-02292-y>
58. Caycedo Lozano L, Corrales Ramírez LC, Trujillo Suárez DM. Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova* [Internet]. 2021 Sep 20;19(36):49–94. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.5293>

© 2025 – Roger Alberto Rabelo-Florez, Gloria Gutiérrez de Piñerez-Ramírez, Alexandra Rosmeri Sanjuan Arias, Bernarda Soraya Cuadrado-Cano, Laura Catalina Palacio Vásquez, Huber Alexander Gómez Gómez.



Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Attribution (CC BY). Se permite el uso, distribución o reproducción en otros foros, siempre que se acredite al autor original y al propietario del copyright y se cite la publicación original en esta revista, de acuerdo con la práctica académica aceptada. No se permite ningún uso, distribución o reproducción que no cumpla con estos términos.