

BIODEGRADACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y ORGANOCLORADOS POR *Candida tropicalis* Y *Stenotrophomonas maltophilia* EN MICROCOSMOS DEL SUELO

Biodegradation of organophosphate and organochlorine pesticides by *Candida tropicalis* and *Stenotrophomonas maltophilia* in soil microcosms

José Leonardo HERNÁNDEZ CASTELLANOS¹, Rodrigo CUERVO GONZÁLEZ¹,
José Luis MONTAÑEZ SOTO², Nancy Deyanira HERNÁNDEZ CASTELLANOS³,
Miguel Alberto PÉREZ VARGAS³, Alejandro CRUZ HERNÁNDEZ³ y
Leandro CHAIRES MARTÍNEZ^{3*}

¹ Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, región Poza Rica-Tuxpan, Universidad Veracruzana, km 7.5 carretera Tuxpan-Tampico, Col. Universitaria, 92850 Tuxpan, Veracruz, México.

² Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional del Instituto Politécnico Nacional, Justo Sierra 28, Col. Centro. 59510 Jiquilpan, Michoacán, México.

³ Centro de Investigación en Alimentos y Ambiental, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Álamo Temapache, km 6.5 carretera Potrero del Llano-Tuxpan, Col. Xoyotitla, 92750 Álamo Temapache, Veracruz. México.

*Autor para correspondencia; leandro.cm@alamo.tecnm.mx

(Recibido: febrero de 2020; aceptado: enero de 2021)

Palabras clave: biodegradación, organofosforados, organoclorados, *Candida tropicalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*

RESUMEN

En México se han utilizado plaguicidas organofosforados y organoclorados que, debido a su persistencia en el ambiente, han causado efectos adversos sobre ecosistemas, cadenas tróficas y salud humana. Por tanto, es importante establecer protocolos de remediación en los sitios contaminados con este tipo de compuestos. En la presente investigación se utilizaron *Candida tropicalis* y *Stenotrophomonas maltophilia* en microcosmos del suelo para la biodegradación de malatión, paratión, clorpirifos, aldrín y lindano. Adicionalmente, se determinaron los parámetros óptimos de crecimiento para ambos microorganismos. La concentración inicial de plaguicidas fue de 130 mg/kg. *C. tropicalis* degradó en un valor alto el malatión (98.32 %) seguido de lindano (81.01 %) y clorpirifos (74.23 %), en tanto que *S. maltophilia* degradó el malatión (98.23 %), aldrín (80.17 %) y lindano (75.85 %). En cuanto a las condiciones de cultivo para la producción de altas densidades celulares a nivel biorreactor, se obtuvo un valor alto de biomasa (132 g/L) para *C. tropicalis* a 36 °C, 140 rpm, pH 5 y una aireación de 2 vvm. En el caso de *S. maltophilia*, la biomasa fue menor respecto a la levadura (54 g/L) en las mejores condiciones de cultivo (28 °C, 70 rpm, pH 5 y una aireación de 2 vvm). El presente trabajo evidenció por primera vez que la levadura *C. tropicalis* tiene la capacidad de degradar algunos plaguicidas organofosforados y organoclorados, y, debido a su fácil manejo en medio líquido, se propone como agente biológico para la remediación de suelos potencialmente contaminados con plaguicidas.

Key words: biodegradation, organophosphates, organochlorine, *Candida tropicalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*

ABSTRACT

For decades, organophosphate and organochlorine pesticides have been used in Mexico. Due to their persistence in the environment, they have caused damage to various ecosystems, accumulation in trophic chains and affectations to human health. Therefore, it is important to establish remediation protocols at contaminated sites with this type of compounds. In this report, the yeast *Candida tropicalis* and the bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* were used in soil microcosms for degrading malathion, parathion, chlorpyrifos, aldrin, and lindane. Additionally, optimal growth parameters for both microorganisms at bioreactor level were determined. The initial concentration of pesticides was 130 mg/kg in 10 g of soil. The highest degradation by *C. tropicalis* was obtained for malathion (98.32 %) followed by lindane (81.01 %), and chlorpyrifos (74.23 %), while *S. maltophilia* degraded malathion (98.23 %), aldrin (80.17 %), and lindane (75.85 %). Regarding culture conditions for producing high cell densities at bioreactor level, a high biomass value (132 g/L) was obtained for *C. tropicalis* at 36 °C, 140 rpm, pH 5 and an air intake of 2 vvm. In the case of *S. maltophilia*, a lower value (54 g/L) was obtained under the best culture conditions (28 °C, 70 rpm, pH 5 and 2 vvm). The present work showed for the first time that *C. tropicalis* is capable of degrading some organophosphate and organochlorine pesticides, and due to its easy handling in liquid culture, it is proposed as a biological agent that can be used in the remediation of potentially pesticide-contaminated soils.

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas han sido importantes para la agricultura, ya que han permitido prevenir y controlar plagas, enfermedades y malezas, incrementando así la productividad y la calidad de los cultivos para la alimentación humana. Sin embargo, el uso continuo e irracional de estos productos agroquímicos ha originado preocupación sobre su potencial efecto negativo en la salud pública y el ambiente. Por lo anterior, los estudios en este campo se han dirigido a limitar su aplicación, a diseñar nuevos agroquímicos amigables con los seres vivos y/o a desarrollar estrategias efectivas para remover los plaguicidas persistentes del suelo y cuerpos de agua (Damalas y Eleftherohorinos 2011).

Los plaguicidas organoclorados (POC) pertenecen al grupo de los contaminantes orgánicos persistentes, y su alta estabilidad química los hace recalcitrantes para su transformación biótica y abiótica. Estos compuestos se acumulan fácilmente en plantas y animales. Por su parte, los plaguicidas organofosforados (POF) presentan toxicidad aguda y se consideran también un problema grave para la salud pública y el ambiente (Hassaan y el-Nemr 2020). Los POC se han usado en México por largo tiempo. De 1974 a 1991, cerca de 60 000 t de estos productos fueron liberados al ambiente (López-Carrillo et al. 1996) y no fue hasta el periodo 2000-2003 cuando se prohibió el uso de DDT y clordano (CCA 2003a, b). A pesar de estas medidas, se han determinado concentraciones más altas de los límites permisibles en diferentes

matrices de suelo, agua, aire e inclusive en sangre de individuos que ha tenido contacto con ellos (Wong et al. 2008).

En una revisión de las estadísticas actuales del uso de plaguicidas en México, García et al. (2018) reportaron que existe poca información al respecto, la cual se ha obtenido a partir de reportes de ventas, conteo de envases vacíos y/o entrevistas. Los mismos autores encontraron que en las principales regiones agrícolas del país se utilizan plaguicidas altamente peligrosos como el paratión metílico, malatión, metamidofos, clorpirifos, monocrotofos, carbofurán, metomilo, mancozeb, clorotalonil, dimetoato, carbarilo, fosforo de aluminio, imidacloprid, cipermetrina, lambda cialotrina y endosulfán.

La biorremediación como técnica de descontaminación tiene muchas ventajas en comparación con técnicas físicas y químicas convencionales. Estas ventajas incluyen el mantenimiento del equilibrio ecológico y bajo costo operativo (Iheanacho et al. 2014). Entre los microorganismos que se han evaluado para la biorremediación de diferentes plaguicidas se incluyen bacterias y hongos filamentosos; sin embargo, no se ha estudiado la capacidad de degradar plaguicidas de especies de levaduras unicelulares como los géneros *Candida*, *Pichia*, *Rhodosporidium*, *Rhodotorula*, entre otras, aun conociendo que estas cepas han tenido éxito en la degradación de hidrocarburos del petróleo y que se ha evidenciado su potencial metabólico ante diversos xenobióticos (Csutak et al. 2010).

En los procesos de biorremediación, la actividad de los microorganismos puede verse afectada por

diversos factores ambientales, de manera que la eficiencia en la degradación de plaguicidas puede variar de un área ecológica a otra y de una cepa a otra dentro de una misma especie. Por esto resulta importante buscar y estudiar nuevas especies que representen una aplicación potencial en la práctica. En la última década se aislaron numerosos microorganismos que tienen la capacidad de degradar plaguicidas y se ha sugerido que los hongos y algunas levaduras son grupos promisorios en la transformación de compuestos recalcitrantes (Harms et al. 2017).

Las levaduras han representado una fuente de biomasa económica y fácilmente disponible en varias aplicaciones, ya que pueden cultivarse en medios sencillos y obtenerse en altas densidades celulares (Ertugrul et al. 2009). Se ha demostrado que la levadura unicelular *Candida tropicalis* tiene potencial para la remoción de hidrocarburos, colorantes y otros contaminantes (Li et al. 2015, Yasmin et al. 2020). Recientemente se reportó su capacidad para degradar clorpirifos etil (Chaires-Martínez et al. 2018); sin embargo, en dicho estudio se llevó a cabo el seguimiento de la degradación del plaguicida mediante cromatografía en capa fina y no se cuantificó el porcentaje de degradación.

Derivado de lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar el potencial de biodegradación de plaguicidas organofosforados (malatión, paratión y clorpirifos etil) y organoclorados (aldrín y lindano) de la levadura *Candida tropicalis* en comparación con *Stenotrophomonas maltophilia*, una bacteria reportada con esta capacidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Instrumentos y reactivos

Placa de calentamiento y agitación controlada de Banster/Thermolyne (EUA); espectrofotómetro Aquarius CE7200 de Cecil (Reino Unido); cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC ProStar 325 LC con detector de luz ultravioleta y columna Pursuit 5 C-18 (150 x 4.6 mm 1.8 μ) de Varian (EUA); autoclave 406-80 de Felisa (México); incubadora 211DS de Labnet (EUA); centrífuga Z326 de Hermle (Alemania); biorreactor de tanque agitado Xplora de Adaptive Biosystems (Reino Unido); medidor de pH CD 100 de WPA (Reino Unido); vórtex MX-S de Scilogex (EUA); balanza analítica AR1140 de Ohaus (México); estándares de plaguicidas grado analítico de alta pureza (> 99 %) (clorpirifos, malatión, metil paratión, aldrín y lindano) de ChemService (EUA); discos de nailon de 0.45 μ m, peptona, dextrosa,

fructosa, hexano, acetonitrilo HPLC y agua miliQ de Sigma (EUA).

Material biológico

Se trabajó con la levadura *Candida tropicalis* y la bacteria *Stenotrophomonas maltophilia*, las cuales fueron aisladas a partir de un suelo contaminado con hidrocarburos e identificadas taxonómicamente mediante el servicio de identificación molecular del Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional. Ambas cepas se mantuvieron refrigeradas a 4 °C en medio de peptona/glucosa (Reyes et al. 2016).

Suelo

Para la construcción de los microcosmos se utilizó suelo de la marca comercial Nutrigarden de Sulfatos y Derivados (México). La textura del suelo fue franca arenosa con un contenido de 20 % de materia orgánica. El suelo se secó a 40 °C y posteriormente se pasó a través de un tamiz de 2 mm antes de usarse en los microcosmos.

Determinación de parámetros óptimos de crecimiento

Con el objetivo de determinar las condiciones óptimas de crecimiento de *C. tropicalis* y *S. maltophilia* se realizaron corridas en un biorreactor con jarra de vidrio de 10 L y volumen de trabajo de 7 L. En el biorreactor se utilizó un medio esterilizado a 121 °C y se controlaron la aireación (de 1 a 2 vvm), la temperatura (24 a 36 °C), el pH (4 a 5) y la velocidad de agitación (70-280 rpm). El biorreactor se inoculó con una biomasa inicial de 0.08 g/L obtenida de crecimiento previo en matraces de 125 mL. En cada corrida se recolectaron muestras de 30 mL cada 2 h para analizar la biomasa por peso seco.

Preparación de los microcosmos del suelo

Para reactivar el crecimiento de *C. tropicalis* a partir de cultivos en cajas de Petri, la levadura se inoculó en 200 mL de un medio de peptona y dextrosa. En el caso de *S. maltophilia* la cepa se inoculó en 200 mL de este mismo medio. Cada medio inoculado se incubó a 30 °C, 120 rpm durante 24 h, hasta alcanzar una densidad óptica de 0.9 (5.14 g/L para *C. tropicalis* y 6.3 g/L para *S. maltophilia*) para su uso posterior en los ensayos. Para la preparación de los microcosmos el suelo se esterilizó previamente en autoclave a 15 psi y 121 °C durante 20 min. Posteriormente se colocaron 10 g de suelo en botes de aluminio y de manera individual se adicionaron los plaguicidas malatión, clorpirifos, metil paratión, aldrín y linda-

no a una concentración de 130 mg/kg. Se llevaron a cabo tres ensayos de biorremediación con cinco repeticiones para cada plaguicida. El primer ensayo correspondió a la inoculación con 10 mL de levadura *C. tropicalis*, el segundo con inoculación de 10 mL de *S. maltophilia* y el último se preparó con un inóculo combinado de *C. tropicalis* y *S. maltophilia* (5 mL de cada cepa). Cada microcosmos se re-inoculó cada tercer día durante 30 días. Se prepararon dos controles para cada plaguicida analizado, ambos con 10 g de suelo esterilizado y adicionados con el plaguicida correspondiente. El primer control se procesó a un día del arranque de los ensayos y el segundo control a los 30 días para verificar la degradación abiótica en las condiciones de temperatura ambiente y microcosmos abiertos en las que se mantuvieron todos los experimentos.

Determinación de la remoción de plaguicidas

Una vez terminado el periodo de tratamiento, cada microcosmos se traspasó a matraces de 125 mL, se extrajeron los plaguicidas con 20 mL de hexano y se agitaron en una agitadora orbital durante 24 h a 120 rpm y 25 °C. Posteriormente se recuperó la fase orgánica por decantación y filtración en papel Whatman núm. 1. El disolvente fue eliminado por evaporación y se adicionaron 15 mL de acetonitrilo grado HPLC para resuspender los plaguicidas. Finalmente, se filtró por medio de discos de nylon con apertura de malla de 22 µm y el filtrado se almacenó en viales de vidrio para su posterior análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Para el análisis cromatográfico se utilizó una fase móvil de acetonitrilo/agua (90:10 v/v) con un flujo de 1.0 mL/min. Se inyectaron 20 µL de cada plaguicida a una concentración conocida para conocer su tiempo de retención y calcular el área bajo la curva del pico cromatográfico. Posteriormente se inyectaron las muestras de cada ensayo y el porcentaje de degradación (%D) se calculó mediante la siguiente expresión:

$$\%D = (Ast - Ap) / Ast \times 100 \quad (1)$$

donde Ap es el valor del área bajo la curva del pico cromatográfico del plaguicida tratado experimentalmente y Ast es el valor del área bajo la curva del pico cromatográfico del plaguicida usado como estándar e inyectado a una concentración conocida (Mayee y Jabez 2020).

Análisis estadístico de resultados

Se verificaron el nivel de significancia estadística, las medias y la desviación estándar de los trata-

mientos y sus réplicas. Asimismo, se analizaron los resultados con la prueba de normalidad Shapiro-Wilk para verificar la distribución normal y se realizaron un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación múltiple de los tratamientos pos hoc (Tukey) mediante el uso del programa estadístico R v. 3.1.2.

RESULTADOS

Determinación de parámetros óptimos de crecimiento

El control de la temperatura, la agitación, el pH y el flujo volumétrico de aire en las corridas experimentales contribuyeron a promover mayor producción de biomasa en los cultivos. En primera instancia se propuso mantener el sistema agitando a una velocidad baja (70 rpm) y pH de 7 para evidenciar el efecto de la temperatura. En la **figura 1** se observa el efecto de la temperatura. A 36 y 28 °C las cepas de *C. tropicalis* y *S. maltophilia*, respectivamente, crecieron óptimamente ($P < 0.05$). Los valores de biomasa determinados fueron de 8.05 y 26.69 g/L, respectivamente. Para el segundo set de corridas, se varió la agitación desde 70 hasta 210 rpm a pH 7 y los valores de temperatura óptima determinados anteriormente para cada microorganismo. En la **figura 2** se observa que *C. tropicalis* aumentó su producción de biomasa en un 33 % a 140 rpm hasta alcanzar los 10.74 g/L, en tanto que velocidades de agitación superiores a 70 rpm afectaron significativamente ($P < 0.05$) el crecimiento de *S. maltophilia*. Cuando se varió el pH durante la fermentación, ambas cepas crecieron mejor a pH controlado de 5 durante toda la fermentación, lográndose incrementar la producción de biomasa en 23 y 30 %, respectivamente (**Fig. 3**). Finalmente, la variación en la aireación mostró que a un flujo volumétrico de aire de 2 vvm se obtienen los mejores resultados y se incrementaron significativamente ($P < 0.05$) los valores de producción de biomasa, teniéndose que *C. tropicalis* alcanzó los 132 g/L y *S. maltophilia* 53.6 g/L (**Fig. 4**).

Remoción de plaguicidas

Se demostró la capacidad de remoción de malatión, clorpirifos, paratión, aldrín y lindano por la levadura *C. tropicalis* y la bacteria *S. maltophilia* (**Fig. 5**). En el caso de malatión no hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la actividad de ambas especies, pero si con relación al consorcio. Los valores de remoción de ambas cepas fueron mayores a 98 %. Para clorpirifos, el tratamiento con *C. tropicalis* presentó una degradación significativamente mayor

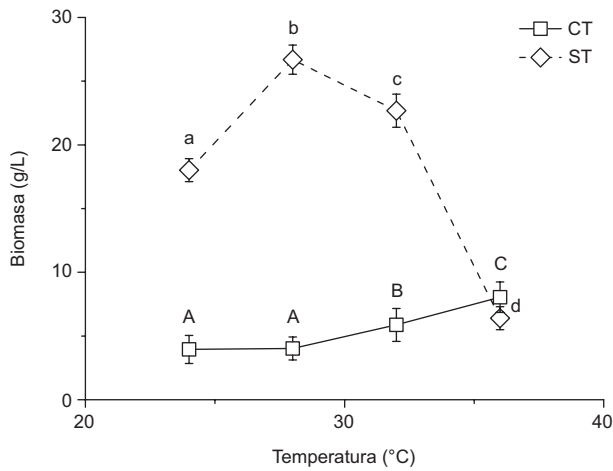


Fig. 1. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento de la levadura *Candida tropicalis* (CT) y la bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* (ST). A-C/a-b: letras diferentes en cada curva de biomasa denotan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

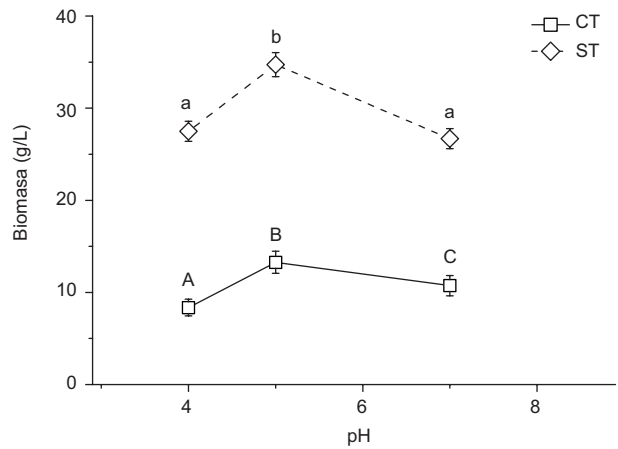


Fig. 3. Efecto del pH sobre el crecimiento de la levadura *Candida tropicalis* (CT) y la bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* (ST). A-C/a-b: letras diferentes en cada curva de biomasa denotan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

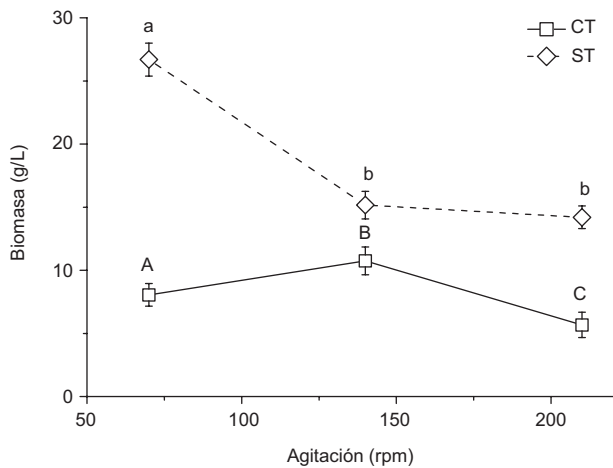


Fig. 2. Efecto de la agitación sobre el crecimiento de la levadura *Candida tropicalis* (CT) y la bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* (ST). A-C/a-b: letras diferentes en cada curva de biomasa denotan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

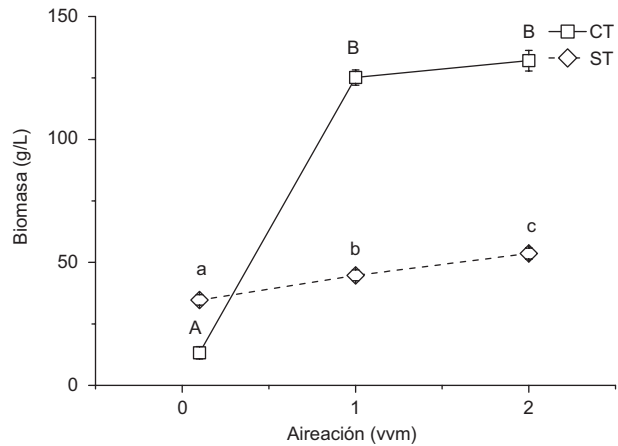


Fig. 4. Efecto de la aireación sobre el crecimiento de la levadura *Candida tropicalis* (CT) y la bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* (ST). A-B/a-c: letras diferentes en cada curva de biomasa denotan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

($P < 0.05$) del plaguicida (74.23 %). En el caso del metil paratión, el mayor porcentaje de degradación ($P < 0.05$) ocurrió con *S. maltophilia* (63.23 %). En la degradación de aldrín el análisis estadístico muestra diferencias significativas ($P < 0.05$), observándose que el consorcio *C. tropicalis*/*S. maltophilia* logró una mayor degradación del plaguicida (87.03 %) y que de ambas cepas, *S. maltophilia* obtuvo los mejores resultados (80.17 %). En los microcosmos

contaminados con lindano, los resultados indican que la mayor degradación del plaguicida (81.01 %) se observó con el tratamiento con *C. tropicalis* ($P < 0.05$). En el **cuadro I** se muestran los resultados del rendimiento de extracción de cada plaguicida y el porcentaje de degradación abiótica. El rendimiento de extracción fue variable, siendo el lindano (97 %), el plaguicida que se recuperó casi en su totalidad. En cuanto a la degradación abiótica, el clorpirifos etil (9.95 %) presentó el valor significativamente más

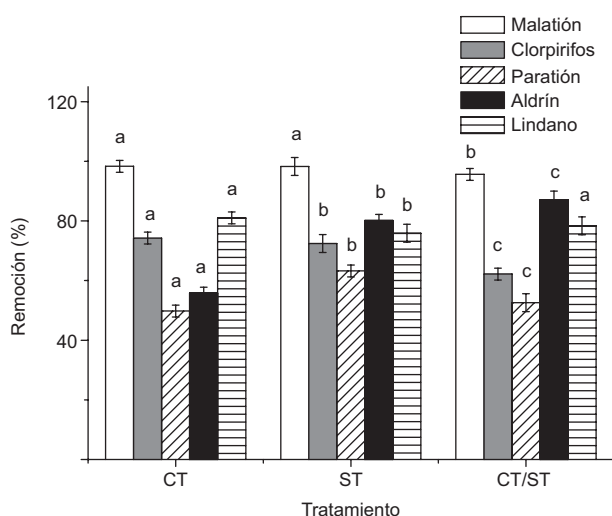


Fig. 5. Porcentajes de remoción de plaguicidas mediante *Candida tropicalis* (CT), *Stenotrophomonas maltophilia* (ST) y un consorcio de ambas cepas (CT/ST). a-c: letras diferentes para la comparación por plaguicida denotan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

CUADRO I. RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE CADA PLAGUICIDA EN LOS MICROCOSMOS Y PORCENTAJE DE DEGRADACIÓN ABIÓTICA EN LOS CONTROLES EXPERIMENTALES.

Plaguicida	Rendimiento de extracción	Degradación abiótica (%)
Valor teórico*	100 ± 0.0	0.0 ± 0.0a
Malatión	42 ± 5.1	6.33 ± 2.5b
Paratión metílico	60 ± 2.8	1.71 ± 0.5a
Clorpirifos etil	56 ± 7.2	9.95 ± 3.8d
Aldrín	41 ± 8.4	7.47 ± 2.8c
Lindano	97 ± 1.2	1.16 ± 1.1a

*La concentración inicial de cada plaguicida en los microcosmos fue de 130 mg/kg. Los valores que siguen a los promedios (\pm) representan la desviación estándar. a-d: letras diferentes en la degradación abiótica denotan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

alto ($P < 0.05$), seguido del malatión (6.33 %). No se presentó degradación abiótica significativa para el paratión metílico y el lindano.

DISCUSIÓN

Parámetros óptimos de crecimiento

Un factor de éxito en la técnica de biorremediación por bioaumentación de biomasa microbiana

es la obtención previa de una alta densidad celular que permita generar un proyecto costeable para su aplicación a el área que se desea remediar (Bhalerao 2012). Para obtener altas densidades celulares se puede recurrir al control operacional de las condiciones físicas y químicas de las fermentaciones, al control de los requerimientos nutricionales de las cepas en estudio y/o a la manipulación genética de los microorganismos.

En este sentido, en el presente trabajo sólo se evaluaron las condiciones de operación del biorreactor para alcanzar las condiciones óptimas de crecimiento de *S. maltophilia* y *C. tropicalis* a nivel de laboratorio, utilizando como fuente de carbono un azúcar simple y peptona como fuente de nitrógeno. El efecto del control de cada parámetro sobre la biomasa producida por ambas cepas es notorio (Figs. 1-4). En el caso de *C. tropicalis*, se había reportado una temperatura óptima de crecimiento de 32 °C a pH de 7 (Chang et al. 1998). Otros autores, como Basak et al. (2013), encontraron una temperatura óptima de 30 °C a pH de 6 y 150 rpm en ensayos para la degradación de 4-clorofenol. Aunque no se ha probado el efecto de la aireación sobre el crecimiento de *C. tropicalis*, sí se ha reportado su actividad en fermentadores aireados con 0.325 vvm (Guneser et al. 2016). Chandran y Das (2012) reportaron valores de producción de biomasa de 3.5 g/L a 35 °C y pH 5 con dichos parámetros de cultivo, mientras que Mohamad et al. (2013) reportaron 12 g/L.

Para el caso de *S. maltophilia*, Vázquez et al. (2005) obtuvieron valores bajos de biomasa (2.4 g/L) al inocular en caldo nutritivo a 24 °C y 240 rpm, en tanto que Oves et al. (2013) y Tebyanian et al. (2013) obtuvieron valores de 4 a 6 g/L al controlar diferentes parámetros de pH (2-12), temperatura (30-37 °C) y agitación (120-180 rpm).

En la figura 3 se observa que en condiciones de agitación mayores a 70 rpm se afecta negativamente la producción de *S. maltophilia*. A pesar de que la agitación es importante para la adecuada mezcla y promoción de una buena transferencia de masa y calor, las condiciones de una agitación elevada pueden afectar negativamente el crecimiento de algunos microorganismos debido a la generación de fuerzas de corte que alteran la morfología, variaciones en tamaño y daños celulares (Atkinson y Mavituna 1985). En la figura 4 se muestra el papel detonante de la aireación en el incremento de la biomasa en el cultivo, sobre todo en el caso de *C. tropicalis*. En conjunto con la agitación, la aireación normalmente satisface la demanda de oxígeno en un proceso de fermentación. La aireación es benéfica para el crecimiento

y desempeño de las células microbianas mediante el incremento de las condiciones de transferencia de masa respecto al sustrato, producto y oxígeno (Atkinson y Mavituna 1985).

En el presente trabajo se obtuvieron los valores más altos de biomasa reportados en la literatura para *C. tropicalis* y *S. maltophilia*, elemento importante en la optimización de la producción de biomasa en biorreactores y en consecuencia en la estimación de costos de producción para el desarrollo de protocolos de biorremediación de sitios potencialmente contaminados. La eficiencia en la producción de biomasa no sólo depende de las variaciones genéticas entre cepas microbianas aisladas en diferentes condiciones climáticas, sino también depende del control óptimo de los parámetros de cultivo, que permitan obtener altas densidades celulares; Knoll et al. (2007) demostraron que en condiciones de presurización en un biorreactor de tanque agitado se pueden obtener densidades celulares muy altas para las bacterias *Corynebacterium glutamicum* (226 g/L) y *Escherichia coli* (110 g/L), y para las levaduras *Arxula adeninivorans* (225 g/L) y *Saccharomyces cerevisiae* (89 g/L).

Remoción de plaguicidas

A pesar de que los plaguicidas desempeñan un papel importante en la agricultura, muchos de ellos son recalcitrantes a la biodegradación. Su uso extensivo y los inevitables desechos tóxicos que generan han agravado el problema de la contaminación ambiental. Actualmente, los POF son los plaguicidas de mayor uso y aceptación comercial en todo el mundo, siendo el paratión metílico, clorpirifos, malatión, diazinon, diclorvos, fenitrotión y fosmet los que encabezan la lista de los más consumidos y de mayor toxicidad (Katikala et al. 2021).

En los estudios de biodegradación se ha explorado la diversidad microbiana, en particular la procedente de sitios contaminados con diversos compuestos xenobióticos, en la búsqueda de bacterias indígenas que puedan ser versátiles para la degradación de una gran variedad de contaminantes (Stroud et al. 2007). Al respecto, el presente trabajo demuestra por primera vez que la levadura *C. tropicalis* posee la capacidad de degradar algunos POF y POC, y reporta su actividad eficiente en comparación con una bacteria con capacidades de degradación de plaguicidas.

Con la finalidad de evidenciar la biodegradación por parte de las cepas en estudio, sin contar con la determinación de productos finales de degradación en los ensayos, se propuso establecer dos tratamientos control que mostraran los valores de degradación abiótica de cada plaguicida. El primer control ayudó

a determinar la máxima concentración de plaguicida que se podía extraer de la matriz del microcosmos, y el segundo dio información sobre el porcentaje de degradación abiótica (**Cuadro I**). En este sentido, los porcentajes de degradación abiótica se encuentran por debajo del 10 % en los microcosmos estudiados.

Algunos reportes mencionan que el malatión tiene baja persistencia en aire, suelo, y agua (Newhart 2006, Tchounwou et al. 2015), así como nula volatilización (constante de la Ley de Henry en 4.9×10^{-9} atm m³/mol), pero su vida media varía según las condiciones ambientales. Reed y Rubin (2014) reportaron la biodegradación en suelo entre dos y siete días, y Poomagal et al. (2021) que en ciertas condiciones de pH y contenido de materia orgánica, el malatión puede persistir en el suelo con una vida media de varios años, siendo la hidrólisis y fotólisis los mecanismos abióticos que promueven su degradación. El malatión se ha utilizado para el control de mosquitos y una gran variedad de insectos que atacan a frutas, vegetales, plantas de ornato y arbustos, y se ha reportado una gran cantidad de estudios sobre su degradación mediante diversos microorganismos (Goda et al. 2010). *Candida tropicalis* degradó el malatión casi al 100 % en los microcosmos; lo mismo se reportó para *S. maltophilia*, cuyo resultado fue contrario a lo reportado por Deng et al. (2015), quienes con una cepa denominada *Stenotrophomonas sp.* G1 concluyeron la incapacidad de degradar malatión a una concentración de 50 mg/L en medio líquido. Muchos de los ensayos de degradación de plaguicidas se efectúan a nivel matraz en medio líquido, y son pocos los que se realizan en microcosmos del suelo. Upegui et al. (2011) demostraron una degradación del 85 % en matrices de suelo usando un consorcio microbiano cuya diferencia respecto al presente trabajo radica en el tiempo de tratamiento (cinco días). Se ha reportado que la ruta predominante en la degradación del malatión implica la generación de metabolitos hasta llegar a la producción de fosfatos, y que el proceso de degradación de POF se efectúa mediante esterasas y oxidorreductasas (Singh et al. 2013), lo cual sugiere que *C. tropicalis* y *S. maltophilia* pudieran degradar al malatión por medio de este tipo de enzimas.

El clorpirifos es un plaguicida efectivo contra un amplio espectro de insectos que afectan cultivos económicamente importantes. Se ha reportado que la vida media del clorpirifos en suelo es de 60 a 120 días, pero puede variar hasta cuatro años dependiendo de la tasa de aplicación, el tipo de suelo, el clima y otras condiciones (Gebremariam et al. 2012). Se ha obtenido la degradación de clorpirifos con especies de los géneros *Flavobacterium*, *Arthrobacter*, *Ente-*

robacter, *Klebsiella*, *Sphingomonas* y *Stenotrophomonas* (John y Shaike 2015). La literatura destaca investigaciones con hongos capaces de degradar clorpirifos; tal es el caso de Chen et al. (2012), quienes reportaron una nueva especie identificada como *Cladosporium cladosporioides* capaz de degradar 50 mg/L en cinco días de tratamiento, la cual puede tolerar hasta 500 mg/L en cultivos en medio líquido. Otros hongos reportados con esta capacidad son cepas de *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Trichoderma* (John y Shaike 2015). La importancia de la levadura *C. tropicalis* (evaluada en el presente proyecto) destaca sobre la lista anterior, ya que es unicelular, no produce esporas y el manejo del cultivo a nivel de biorreactor presenta mayor facilidad.

El paratión, mejor conocido como paratión metílico, es un insecticida muy utilizado aún a nivel mundial, a pesar de que su remoción de ambientes contaminados presenta gran dificultad y durante su extracción física y química pueden detectarse productos secundarios aún más tóxicos (Wu et al. 2019). La degradación del paratión metílico depende del tipo de suelo, humedad, pH y concentración inicial vertida; se ha reportado una vida media de 1 a 240 días (Singh et al. 2003) y en casos donde en que han derramado altas concentraciones, la degradación puede tardar varios años (Sharma 2015). Por tanto, se han buscado opciones biológicas para su remoción, siendo más estudiadas las bacterias del género *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Alcaligenes* (Geed et al. 2019). La literatura es limitada para aplicaciones de remediación de suelos y en este sentido la propuesta de utilizar *C. tropicalis* e inclusive *S. maltophilia* a nivel de microcosmos es novedosa. Autores como Zhongli et al. (2001) reportaron que la degradación de paratión empleando *S. maltophilia* está mediada por enzimas del tipo de las hidrolasas, denominadas MPH, y se ha demostrado que dichas enzimas tienen preferencia por el paratión metílico como sustrato principal. También se ha reportado que estas enzimas participan en la degradación de clorpirifos y no se descarta su presencia en la levadura *C. tropicalis*.

Por otro lado, los POC se han caracterizado por ser plaguicidas con una alta dificultad de degradación debido a que su estabilidad química es muy alta. La vida promedio de estos plaguicidas supera los 10 años (Sun et al. 2005). De acuerdo con la investigación documental de García et al. (2018), existe poca información publicada sobre los patrones de uso de POC en los estados agrícolas de México. En uno de los escasos reportes al respecto se registró que en el estado de Nayarit (2007-2008) se usaron dicofol y

endosulfán. De acuerdo con el catálogo de plaguicidas usados en México (Bejarano et al. 2017), el DDT está reservado para la Secretaría de Salud y en sentido estricto su registro no está cancelado ni se ha prohibido su uso en nuestro país. El endosulfán y el lindano, de cuyo uso se tiene registro hasta 2016, se encuentran en el mismo caso.

A nivel mundial, el uso excesivo de POC en décadas pasadas provocó daños a las tierras de cultivo y provocó casos graves de contaminación. Estos plaguicidas se han dispersado a través de suelo, agua y aire, y en la actualidad se ha detectado su presencia en alimentos para consumo humano. Otro problema generado es la acumulación de sus residuos y metabolitos a niveles inaceptables. Por ello, uno de los planteamientos para el establecimiento de un desarrollo sostenible es la remediación de suelos contaminados con el objetivo de proteger los ecosistemas naturales y la salud humana (Cheng et al. 2016). En el presente trabajo se abordó el estudio de biodegradación del aldrín y el lindano y se observó que el consorcio de *Candida tropicalis* y *Stenotrophomonas maltophilia* presentó los valores más altos de biodegradación del aldrín. En otro trabajo, Bandala et al. (2006) reportaron degradación del aldrín de 94 % usando *Pseudomonas fluorescens* a una concentración de 10 mg/L (menor a la del presente trabajo) en medio líquido. El aldrín posee estabilidad química y baja solubilidad en agua, por lo cual es persistente en el suelo y sedimentos, con una vida media de uno o más años (Purnomo 2017).

El uso del lindano se ha prohibido en la mayoría de los países y se incluyó en la lista de la Convención de Estocolmo de contaminantes orgánicos persistentes junto con otros 22 compuestos organoclorados (Vijgen et al. 2011). Sin embargo, en años anteriores, millones de toneladas se liberaron al ambiente principalmente mediante prácticas agrícolas, por lo cual su presencia se ha detectado con frecuencia en el ambiente y en las cadenas tróficas (Kumar y Pannu 2018). En suelos y sedimentos, el lindano puede ser degradado por microorganismos, pero se ha reportado que el principal mecanismo es la volatilización. Su vida media en suelos tratados se estima en 120 días (Bintein y Devillers 1996).

Algunos autores han reportado la biodegradación de lindano con especies como *Clostridium sphenoides* (Heritage y MacRae 1977), *Pandora sp.* (Okeke et al. 2002) y *Pseudomonas sp.* (Nawab et al. 2003). Pocos trabajos han abordado el uso de hongos para remover lindano. Guillén-Jiménez et al. (2012) investigaron la actividad de *Fusarium verticillioides* y Rigas et al. (2005) la del hongo comestible

Pleurotus ostreatus. No se encontraron reportes para levaduras. Comparando los resultados de *Candida tropicalis* con otros microorganismos, los porcentajes de remoción de lindano son superiores a lo reportado por Krishna y Philip (2008), quienes observaron un 62 % de degradación de este contaminante (50 mg/L) a los 64 días de tratamiento con un aislado bacteriano, y a lo observado por Anupama y Sangeeta (2010), quienes obtuvieron una degradación del 65.7 % utilizando *Azotobacter chroococcum*. Algunos microorganismos tienen la capacidad de degradar lindano de manera eficiente en condiciones aerobias y anaerobias, siendo la mineralización completa en aerobiosis. Las principales reacciones involucradas en la biodegradación de lindano son la deshidrogenación, dechloración, hidroxilación, deshidrocloración y mineralización (Cuozzo et al. 2017).

Como se demostró en las secciones anteriores, el presente trabajo es el primero en reportar el uso de una levadura unicelular del género *Candida* para la degradación de clorpirifos, paratión, malatión, aldrín y lindano. Asimismo, se muestra por primera vez la degradación de plaguicidas en microcosmos del suelo en concentraciones hasta cinco veces más altas que las reportadas en la literatura en ensayos en medio líquido. Sería importante determinar el estudio de las enzimas implicadas en la degradación de plaguicidas, así como los productos de degradación. En México hay pocos estudios sobre la distribución de plaguicidas en ecosistemas acuáticos como cuerpos de agua superficiales y subterráneos, así como en ecosistemas terrestres a lo largo del país. Sin embargo, se podrían implementar protocolos para la biorremediación de ecosistemas en los cuales las cepas estudiadas en el presente trabajo podrían desempeñar un papel importante en la descontaminación de dichos sitios.

CONCLUSIONES

Candida tropicalis y *Stenotrophomonas maltophilia* son microorganismos con altos porcentajes de biodegradación de malatión, seguido de lindano y clorpirifos y, debido a su naturaleza biótica, son una alternativa a los productos químicos empleados en biorremediación. El consorcio sólo superó a las cepas individuales en la biodegradación de aldrín. En cuanto al manejo de las cepas en cultivo en tanque agitado, se recomienda el uso de *C. tropicalis* debido a la alta densidad celular alcanzada (hasta 132 g/L). La presente investigación contribuye al establecimiento de estrategias para la remediación de suelos contaminados con plaguicidas organoclorados y

organofosforados, y a su vez amplía el conocimiento de sobre aplicación de microorganismos como *C. tropicalis* y *S. maltophilia* para la degradación de dichos plaguicidas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento del proyecto a través de la beca 445.17-PD.

REFERENCIAS

- Anupama K.S. y Sangeeta P. (2010). *Ex situ* and *in situ* biodegradation of lindane by *Azotobacter chroococcum*. J. Environ. Sci. Health Part B. 45, 58-66. <https://doi.org/10.1080/03601230903404465>
- Atkinson B. y Mavituna F. (1985). Biochemical engineering and biotechnology handbook. Stockton Press, Nueva York, 1271 pp.
- Bandala E.R., Andrés-Octaviano J., Pastrana P. y Torres L.G. (2006). Removal of aldrin, dieldrin, heptachlor, and heptachlor epoxide using activated carbon and/or *Pseudomonas fluorescens* free cell cultures. J. Environ. Sci. Health Part B. 41, 553-569. <https://doi.org/10.1080/03601230600701700>
- Basak B., Bhunia B., Dutta S. y Dey A. (2013). Enhanced biodegradation of 4-chlorophenol by *Candida tropicalis* PHB5 via optimization of physicochemical parameters using Taguchi orthogonal array approach. Int. Biodeterior. Biodegrad. 78, 17-23. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.12.005>
- Bejarano F., Aguilera-Márquez D., Márquez J., Álvarez-Solís J., Solís E., Meraz A., Arellano-Aguilar O., Jesús P., Bastidas P., Los V., Beltrán A., Camacho, H., Bernardino U., Hernández, M., Betancourt-Lozano M., Ligne C. Vázquez C., Castillo J., Cadena C. y Kubiak W. (2017). Los plaguicidas altamente peligrosos en México. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México, México, 351 pp.
- Bhalerao T.S. (2012). Bioremediation of endosulfan-contaminated soil by using bioaugmentation treatment of fungal inoculant *Aspergillus niger*. Turk J. Biol. 36, 561-567. <https://doi.org/10.3906/biy-1112-44>
- Bintein S. y Devillers J. (1996). Evaluating the environmental fate of lindane in France. Chemosphere 32, 2427-2440. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(96\)00140-3](https://doi.org/10.1016/0045-6535(96)00140-3)
- Chaires-Martínez L., Jiménez-Avalos H.A. y Pérez-Vargas M.A. (2018). Remoción de hidrocarburos alifáticos, plaguicidas y cromo (VI) mediante el uso de

- Candida tropicalis* y *Stenotrophomonas maltophilia*. En: Investigación en el Sistema de Educación Superior Tecnológica del Estado de Veracruz (Sandoval L.C. y Cerdán M.A., Eds.). Transferencia e Innovación Tecnológica del Instituto Tecnológico Superior de Xalapa, México, pp. 41-46.
- Chandran P. y Das N. (2012). Role of sophorolipid biosurfactant in degradation of diesel oil by *Candida tropicalis*. *Bioremediat. J.* 16, 19-30. <https://doi.org/10.1080/10889868.2011.628351>
- Chang Y.H., Li C.T., Chang M.C. y Shieh W.K. (1998). Batch phenol degradation by *Candida tropicalis* and its fusant. *Biotechnol. Bioeng.* 60, 391-395. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19981105\)60:3<391::AID-BIT17>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19981105)60:3<391::AID-BIT17>3.0.CO;2-P)
- Chen S., Liu C., Peng C., Liu H., Hu M. y Zhong G. (2012). Biodegradation of chlorpyrifos and its hydrolysis product 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by a new fungal strain *Cladosporium cladosporioides* Hu-01. *Plos One* 7 (10), 1-12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047205>
- Cheng M., Zeng G., Huang D., Lai C., Xu P., Zhang C. y Liu Y. (2016). Hydroxyl radicals based advanced oxidation processes (AOPs) for remediation of soils contaminated with organic compounds: A review. *Chem. Eng. J.* 284, 582-598. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.09.001>
- CCA (2003a). América del Norte ya no usa DDT. Comisión para la Cooperación Ambiental [en línea]. <http://www3.cec.org/islandora/es/item/1968-ddt-no-longer-used-in-north-america>
- CCA (2003b). El clordano, fuera de uso en América del Norte. Comisión para la Cooperación Ambiental [en línea]. <http://www3.cec.org/islandora/es/item/1967-chlordane-no-longer-used-in-north-america>
- Csutak O., Stoica I., Ghindea R., Tanase A.M. y Vassu T. (2010). Insights on yeast bioremediation processes. *Roman. Biotechnol. Lett.* 15, 5066-5071. <https://www.rombio.eu/rbl2vol15/1%20Ortansa%20Csutak.pdf>
- Cuozzo S.A., Sineli P.E., Davila-Costa J. y Tortella G. (2017). *Streptomyces* sp. is a powerful biotechnological tool for the biodegradation of HCH isomers: Biochemical and molecular basis. *Crit. Rev. Biotechnol.* 38, 719-728. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1398133>
- Damalas C.A. y Eleftherohorinos I.G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 8, 1402-1419. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>
- Deng S., Chen Y., Wang D., Shi T., Wu X., Ma X., Li X., Hua R., Tang X. y Li Q. (2015). Rapid biodegradation of organophosphorus pesticides by *Stenotrophomonas* sp. G1. *J. Hazard. Mater.* 297, 17-24. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.04.052>
- Ertugrul S., San N.O. y Dönmez G. (2009). Treatment of dye (Remazol blue) and heavy metals using yeast cells with the purpose of managing polluted textile wastewaters. *Ecol. Eng.* 35, 128-134. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2008.09.015>
- García J., Leyva J.B., Martínez I.E., Hernández M.I., Aldana M.L., Rojas A.E., Betancourt M., Perez N.E. y Perera J.H. (2018). Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México *Rev. Int. Contam. Ambie.* 34, 29-60. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.esp01.03>
- Geed S.R., Samal K., Srivastava H. y Kartheek B. (2019). Study the performance of continuous bioreactor for the treatment of wastewater containing methyl parathion by isolated *Alcaligenes* species. *J. Environ. Chem. Eng.* 7, 103158. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103158>
- Gebremariam S.Y., Beutel M.W., Yonge D.R., Flury M. y Harsh J.B. (2012). Adsorption and desorption of chlorpyrifos to soils and sediments. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 215, 123-175. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1463-6_3
- Goda S.K., Elsayed I.E., Khodair T.A., El-Sayed W. y Mohamed M.E. (2010). Screening for isolation and identification of malathion-degrading bacteria: Cloning and sequencing a gene that potentially encodes the malathion-degrading enzyme, carboxylestrase in soil bacteria. *Biodegrad.* 21, 903-913. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9350-3>
- Guillén-Jiménez F.D., Cristiani-Urbina E., Cancino-Díaz J.C., Flores-Moreno J.L. y Barragán-Huerta B.E. (2012). Lindane biodegradation by the *Fusarium verticilloides* AT-100 strain, isolated from *Agave tequilana* leaves. *Int. Biodet. Biodeg.* 74, 36-47. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.04.020>
- Guneser O., Demirkol A., Karagul Y., Ozmen S., Isleten M. y Elibol M. (2016). Production of flavor compounds from olive oil mill waste by *Rhizopus oryzae* and *Candida tropicalis*. *Braz. J. Microbiol.* 48, 275-285. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.08.003>
- Harms H., Wick L.Y. y Schlosser D. (2017). The fungal community in organically polluted systems. En: *Mycology* (Dighton J. y White J.F., Eds.). CRC Press-Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, pp. 459-470.
- Hassaan M. y el-Nemr A. (2020). Pesticides pollution: classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *Egypt. J. Aquat. Res.* 46, 207-220. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.08.007>
- Heritage A.D. y MacRae I.C. (1977). Identification of intermediates formed during the degradation of hexachlorocyclohexanes by *Clostridium sphenoides*. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 1295-1297. <https://doi.org/10.1128/aem.33.6.1295-1297.1977>

- Iheanacho C.C., Okerentugba P.O., Orji F.A. y Ataikuru T.L. (2014). Hydrocarbon degradation potentials of indigenous fungal isolates from a petroleum hydrocarbon contaminated soil in Sakpenwa community, Niger Delta. *Glob. Adv. Res. J. Environ. Sci. Toxicol.* 3, 006-011.
- John E.M. y Shaikhe J.M. (2015). Chlorpyrifos: Pollution and remediation. *Environ. Chem. Lett.* 13, 269-291. <https://doi.org/10.1007/s10311-015-0513-7>.
- Katikala R.K., Singh M., Atmakuru R., Tyagi V. y Reddy A.S. (2021). Recent trends in bacterial enzymatic degradation and toxicity evaluations of organophosphorous pesticides. *Recent Dev. Appl. Microbiol. Biochem.* 2, 231-239. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821406-0.00021-7>
- Knoll A., Bartsch S., Husemann B., Engel P., Schroer K., Ribeiro B., Stöckmann C., Seletzky J. y Büchs J. (2007). High cell density cultivation of recombinant yeasts and bacteria under non-pressurized and pressurized conditions in stirred tank bioreactors. *J. Biotechnol.* 132, 167-179. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.06.010>
- Krishna K. y Philip L. (2008). Biodegradation of lindane, methyl parathion and carbofuran by various enriched bacterial isolates. *J. Environ. Sci. Health Part B.* 43, 157-171. <https://doi.org/10.1080/03601230701795155>
- Kumar D. y Pannu R. (2018). Perspectives of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) biodegradation from the environment: A review. *Bioresour. Bioprocess.* 5, 29-47. <https://doi.org/10.1186/s40643-018-0213-9>
- Li H., Tan L., Ning S. y He M. (2015). Reactor performance and microbial community dynamics during aerobic degradation and detoxification of Acid Red B with activated sludge bioaugmented by a yeast *Candida tropicalis* TL-F1 in MBR. *Int. Deter. Biodegr.* 104, 149-156. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.06.006>
- López-Carrillo L., Torres-Arreola L., Torres-Sánchez L., Espinosa-Torres F., Jimenez C., Cebrian M., Waliszewski S. y Saldate O. (1996). Is DDT use a public health program in Mexico? *Environ. Health Perspect.* 104, 584-588. <https://doi.org/10.1289/ehp.104-1469381>
- Mayee D. y Jabez O. (2020). Rapid biodegradation and biofilm-mediated bioremoval of organophosphorus pesticides using an indigenous *Kosakonia oryzae* strain-VITPSCQ3 in a vertical-flow packed bed biofilm bioreactor. *Ecotoxicol. Environm. Safety* 192, 110290. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110290>
- Mohamad N.L., Kamal S.M., Abdullah N. e Ismail I. (2013). Evaluation of fermentation conditions by *Candida tropicalis* for xylitol production from sago trunk cortex. *BioResources.* 8, 2499-2509.
- Nawab A., Aleem A. y Malik A. (2003). Determination of organochlorine pesticides in agricultural soil with special reference to gamma-HCH degradation by *Pseudomonas* strains. *Bioresour. Technol.* 88, 41-46. [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(02\)00263-8](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(02)00263-8)
- Newhart K. (2006). Environmental fate of malathion. Environmental Monitoring Branch, Department of Pesticide Regulation, California Environmental Protection Agency, Sacramento, EUA, 20 pp.
- Okeke B.C., Siddique T., Arbertain M.C. y Frankenberger W.T. (2002). Biodegradation of gamma-hexachlorocyclohexane (Lindane) and alpha-hexachlorocyclohexane in water and a soil slurry by a *Pandoraaea* species. *J. Agr. Food Chem.* 50, 2548-2555. <https://doi.org/10.1021/jf011422a>
- Oves M., Khan M.S., Zaidi A., Ahmed A.S., Ahmed F., Ahmad E., Sherwani A., Owais M. y Azam A. (2013). Antibacterial and cytotoxic efficacy of extracellular silver nanoparticles biofabricated from chromium reducing novel OS4 strain of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Plos One* 8, e59140. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059140>
- Poomagal S., Sujatha R., Senthil P.K. y Dai-Viet N.V. (2021). A fuzzy cognitive map approach to predict the hazardous effects of malathion to environment (air, water and soil). *Chemosphere* 263, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127926>
- Purnomo A.S. (2017). Microbe-assisted degradation of aldrin and dieldrin. En: *Microbe-induced degradation of Pesticides* (Singh S.N., Ed.). Springer International Publishing, Switzerland, pp. 1-22. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45156-5_1
- Reed N.R. y Rubin A.L. (2014). Malathion. En: *Encyclopedia of toxicology* (Wexler P., Ed.). Academic Press, EUA, 133-137. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00156-1>
- Reyes S., Jiménez H.A., Pérez M.A. y Chaires L. (2016). Remoción de cromo (VI) en una columna de burbujeo utilizando *Candida tropicalis*. *J. CIM* 4, 598-604.
- Rigas F., Dritsa V., Marchant R., Papadopoulou K., Avramides E.J. y Hatzianestis I. (2005). Biodegradation of lindane by *Pleurotus ostreatus* via central composite design. *Environ. Int.* 31, 191-196. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.09.024>
- Sharma J. (2015). A review on in situ biodegradation of methyl parathion through soil microbes. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 4, 632-649. <https://www.ijcmas.com/vol-4-5/Jyoti%20Sharma.pdf>
- Singh B., Kaur J. y Singh K. (2013). Microbial degradation of an organophosphate pesticide, malathion. *Crit. Rev. Microbiol.* 9, 1-9. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763222>
- Singh B.K., Walker A., Morgan J.A. y Wright D.J. (2003). Effects of soil pH on the biodegradation of chlorpyrifos and isolation of a chlorpyrifos-degrading bacterium.

- Appl. Environ. Microbiol. 69, 5198-5206. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5198-5206.2003>
- Stroud J.L., Paton G.I. y Semple K.T. (2007). Microbial-aliphatic hydrocarbon interactions in soil: Implications for biodegradation and bioremediation. *J. Appl. Microbiol.* 102, 1239-1253. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03401.x>
- Sun F., Wong S.S., Li C.G. y Chen S.N. (2005). A preliminary assessment of consumer's exposure to pesticide residues in fisheries products. *Chemosphere* 62, 674-680. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.112>
- Tchounwou P.B., Patlolla A.K., Yedjou C.G. y Moore P.D. (2015). Environmental exposure and health effects associated with malathion toxicity. En: Toxicity and hazard of agrochemicals (Larramendy M.L. y Soloneski S., Eds.). IntechOpen, Londres, Reino Unido, pp. 71-91 <https://www.intechopen.com/books/toxicity-and-hazard-of-agrochemicals/environmental-exposure-and-health-effects-associated-with-malathion-toxicity>
- Tebyanian H., Hassanshahian M. y Kariminik A. (2013). Hexadecane-degradation by *Teskumurella* and *Stenotrophomonas* strains isolated from hydrocarbon contaminated soils. *Jundishapur J. Microbiol.* 6, 1-7. <https://doi.org/10.5812/jjm.9182>
- Upegui S., Peñuela G. y Botero L. (2011). Efecto del enriquecimiento con nutrientes en la degradación de clorpirifos, malatión y metil paratión. *Rev. Ing. Univ. Medellín* 5, 43-49. <http://www.scielo.org.co/pdf/rium/v10n18/v10n18a05.pdf>
- Vázquez S., Ruberto L. y Mac Cormack W. (2005). Properties of extracellular proteases from three psychrotolerant *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from Antarctic soil. *Polar Biol.* 28, 319-325. <https://doi.org/10.1007/s00300-004-0673-6>
- Vijgen J., Abhilash P.C., Li Y.F., Lal R., Forter M., Torres J., Singh N., Yunus M., Tian C., Schaffer A. y Weber R. (2011). Hexachlorocyclohexane (HCH) as new Stockholm Convention POPs--a global perspective on the management of lindane and its waste isomers. *Environ. Sci. Pollut. Re. Int.* 18, 152-162. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0417-9>
- Wong F., Alegría H.A., Jantunen L.M., Bidleman T.F., Figueroa M.S., Gold-Bouchot G., Ceja-Moreno V., Waliszewski S.M. e Infanzón R. (2008). Organochlorine pesticides in soils and air of southern Mexico: chemical profiles and potential for soil emissions. *Atmos. Environ.* 42, 7737-7745. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2008.05.028>
- Wu H., Luo Y., Hou C., Huo D., Wang W., Zhao J. y Lei Y. (2019). Rapid and fingerprinted monitoring of pesticide methyl parathion on the surface of fruits/leaves as well as in surface water enabled by gold nanorods based casting-and-sensing SERS platform. *Talanta* 200, 84-90. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.004>
- Yasmin C., Lobna E., Mouna M., Kais D., Mariam K., Rached S., Abdelwaheb C. e Ismail T. (2020). New trend of Jebel Chakir landfill leachate pre-treatment by photocatalytic TiO₂/Ag nanocomposite prior to fermentation using *Candida tropicalis* strain. *Int. Biodeter. Biodegr.* 146, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104829>
- Zhongli C., Shunpeng L. y Guoping F. (2001). Isolation of methyl parathion degrading strain M6 and cloning of the methyl parathion hydrolase gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4922-4925. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4922-4925.2001>