

Aislamiento de hongos productores de fosfatasas para la degradación de compuestos organofosforados en aguas contaminadas por pesticidas en cultivos de aguacate

Isolation of phosphatase-producing fungi for the degradation of organophosphorus compounds in water contaminated by pesticides in avocado cultivation

Castillo-Magaña A. L.¹, Pliego-Sandoval, J. E.^{1*}, Reyes-Nava, L. A.¹, Reyes-Bautista, R.²,
Iñiguez-Muñoz, L. E.¹, Hernández-Aguirre, O. A.³

 Castillo-Magaña A. L.
agueda.castillo@alumnos.udg.mx

 Pliego-Sandoval, J. E.
jorge.pliego@cusur.udg.mx

 Reyes-Nava, L. A.
luis.reyes@cusur.udg.mx

 Reyes-Bautista, R.
raul.rb@purisima.tecnm.mx

 Iñiguez-Muñoz L.E.
laural@cusur.udg.mx

 Hernández-Aguirre, O. A.
ohernandez@toluca.tecnm.mx

*Autor de correspondencia: jorge.pliego@cusur.udg.mx

¹ Centro Universitario del Sur, Departamento de Ciencias Computacionales e Innovación Tecnológica, Universidad de Guadalajara, Av. Enrique Arreola Silva No. 883, Colón, Cd Guzmán 49000, Jalisco, México.

² Tecnológico Nacional de México/ITS de Purísima del Rincón. Blvd. Del Valle, No. 2301. Colonia Guardarrayas, CP. 36425. Purísima del Rincón, Guanajuato, México.

³ Amtex Corp S.A. de C.V. Planta Dirección: Km 2 Carretera Amomolulco-Ocoyoacac. 52740, Ocoyoacac. Estado de México, México.

Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, Nicaragua

ISSN-e: 2410-7980

Periodicidad: Semestral

vol.10, núm.19, 2024

conrado.quiroz@ev.unanleon.edu.ni

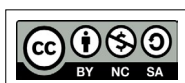
Recepción: 16 agosto, 2024

Aprobación: 17 diciembre, 2024

URL: <https://revistas.unanleon.edu.ni/index.php/REBI-CAMCLI/article/view/1074>

DOI: <https://doi.org/10.5377/ribcc.v10i19.20737>

Copyright © 2024 Rev. iberoam. bioecon. cambio clim. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua León (UNAN-León), Area de Conocimiento de ciencias agrarias y veterinarias/ Area Especifica de Agroecología y agronegocios /Centro de Investigación Ciencias Agrarias y Veterinarias. Dirección Académica. Departamento de Investigación. Unidad de publicaciones y eventos científicos. Departamento de Investigación. Unidad de Publicaciones y Eventos Científicos.



Esta obra está bajo una licencia internacional
[Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Resumen

Antecedentes: La contaminación del agua ha adquirido una relevancia crítica en los últimos años debido a las crecientes actividades humanas, industriales y agrícolas, que han contribuido significativamente al aumento de los índices de contaminación ambiental. En particular, la agricultura es uno de los sectores que más impacta negativamente en los cuerpos de agua, principalmente por el uso excesivo de pesticidas. Entre estos, los compuestos organofosforados, como el malatión, son ampliamente utilizados en los cultivos de aguacate y representan un riesgo grave para la salud del ecosistema.

Objetivo: Este estudio tiene como objetivo aislar microorganismos capaces de producir enzimas para la degradación de contaminantes organofosforados.

Metodología: Se emplearon diferentes concentraciones de malatión para aislar microorganismos capaces de crecer en presencia de compuestos organofosforados. Se realizaron análisis tanto cualitativos como cuantitativos para evaluar su capacidad de degradación, mediante la determinación de la actividad fosfatasa producida por las enzimas obtenidas de los microorganismos aislados.

Resultado: Se aislaron siete cepas de hongos con la capacidad de proliferar en medios contaminados con organofosforados. Las actividades fosfatasas observadas variaron entre 99.2 U/L y 1160.5 U/L, lo que indica un amplio rango de potencial para la degradación de estos compuestos. Mediante técnicas de micro cultivo se identificaron las cepas, observando que la mayoría compartía características morfológicas con especies del género *Aspergillus*. **Conclusiones:** Este hallazgo destaca el potencial de estos hongos productores de fosfatasas como agentes biorremediadores, ofreciendo una solución ecológica para la degradación de compuestos organofosforados en cuerpos de agua contaminados.

Palabras claves: Microorganismos, Biorremediación, Sostenibilidad agrícola, Efluentes agrícolas, Procesos enzimáticos.

Abstract

Background: Water pollution has regained critical relevance in recent years due to increasing human, industrial, and agricultural activities, which have significantly increased environmental pollution rates. In particular, agriculture is one of the sectors that most negatively impacts water bodies, mainly due to the excessive use of pesticides. These chemical compounds, especially organophosphates such as malathion, are widely used on avocado crops and represent a severe risk to the ecosystem's health. **Objective:** This study aimed to isolate microorganisms capable of producing enzymes to degrade organophosphorus contaminants. **Methodology:** Different concentrations of malathion were used to isolate microorganisms capable of growing in the presence of organophosphorus compounds. Qualitative and quantitative analyses were performed to evaluate their degradation capacity by determining the phosphatase activity produced by the enzymes from the isolated microorganisms. **Result:** Seven fungal strains that could proliferate in organophosphate-contaminated media were isolated. The observed phosphatase activities ranged from 99.2 U/L to 1160.5 U/L, suggesting a wide range of potential for degradation of these compounds. Microculture techniques identified the strains, revealing that most shared morphological characteristics with species of the genus *Aspergillus*. **Conclusions:** This finding highlights the potential of these phosphatase-producing fungi as bioremediation agents, offering an ecological solution for the degradation of organophosphorus compounds in contaminated water bodies.

Keywords: Microorganisms, Bioremediation, Agricultural sustainability, Agricultural effluents, Enzymatic processes.

Introducción

Los organofosforados son compuestos derivados del ácido fosfórico y son utilizados como pesticidas, incluyendo insecticidas, herbicidas y fungicidas (Saheem *et al.*, 2022). Su mecanismo de acción principal radica en la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE) (Aroniadou-Anderjaska *et al.*, 2023). Al ingresar al organismo, los organofosforados pierden un grupo sulfuro, que es reemplazado por oxígeno para formar un oxón, el cual es responsable de la inhibición de la AChE (Saborio *et al.*, 2019).

En el rubro agrícola, existen pesticidas que contienen compuestos organofosforados, entre estos se encuentran alrededor del 34% de los plaguicidas producidos y vendidos a nivel mundial. En México, estos pesticidas son de los más utilizados, y su uso se ha asociado con una serie de enfermedades, incluyendo trastornos respiratorios, neurológicos e incluso cáncer (Vargas Zamarripa *et al.*, 2008).

Dado el impacto negativo de los organofosforados en la salud pública, su uso se ha convertido en una preocupación creciente. Los efectos adversos para la salud incluyen visión borrosa, dolor torácico, broncorrea, náuseas e hipersecreción, entre otros (Saborio *et al.*, 2019). Por ello es importante encontrar alternativas económicamente sostenibles para la degradación de estos residuos y promover alternativas sostenibles en el desarrollo agrícola del país (Monforte García & Cantú Martínez, 2015).

Entre las técnicas más comunes para el tratamiento de aguas residuales industriales se encuentran lodos activados, lechos bacterianos, filtros verdes y reactores biológicos de membrana. Sin embargo, estas soluciones suelen ser costosas debido al alto consumo energético, la infraestructura requerida, mantenimiento necesario, así como el personal especializado para operarlos (Hernández *et al.*, 2017; Loh *et al.*, 2022). Actualmente, se están explorando alternativas económicas, entre las cuales resalta la biorremediación por medio del uso de microorganismos productores de enzimas, capaces de remover contaminantes en aguas residuales (Bhandari *et al.*, 2021; Sivaperumal *et al.*, 2017; Mateescu *et al.*, 2024).

Entre las enzimas para la degradación de organofosforados se encuentran las fosfatasas, esterases y paratión hidrolasas, las cuales intervienen en la degradación de compuestos organofosforados en sustancias menos tóxicas (Ibrahim *et al.*, 2015; Hernández Ruiz *et al.*, 2017).

Algunos microorganismos como hongos y bacterias pueden producir las enzimas previamente mencionadas permitiendo degradar algunos pesticidas. Estos microorganismos comúnmente se pueden encontrar en suelos, tuberías e incluso en algunos tallos podridos de vegetales (Hernández Ruiz *et al.*, 2017). Es así como, en una investigación realizada por Maldonado Toro (2017), se evaluó la eficiencia de biodegradación de un insecticida organofosforado en muestras de suelo de cultivo de papa, mediante la aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Pleurotus ostreatus*.

Santillán (2019) llevó a cabo una investigación en la que tuvo como objetivo desarrollar un sistema capaz de llevar a cabo la biorremediación de aguas contaminadas con pesticidas organofosforados utilizando catalizadores con actividad fosfotriesterasa. Se estudiaron seis cepas bacterianas nativas para la degradación de metil paraoxón y otros compuestos como clorpirifós y cumafós, optimizando las condiciones de reacción. Hernández Ruiz *et al.* (2017) identificaron hongos y bacterias clave en la biorremediación de plaguicidas organofosforados en suelos agrícolas, destacando los géneros *Serratia*, *Bacillus*, y *Pseudomonas* como los más efectivos. Demostró que el éxito del proceso depende de factores como la competitividad microbiana, biodisponibilidad y concentración del contaminante, pH, temperatura, tipo de suelo, suplementos nutricionales y concentración del inóculo.

Ibrahim *et al.* (2015), evaluaron diversos microorganismos bacterianos aislados de muestras de suelos con el propósito de analizar su capacidad para degradar plaguicidas y considerar su potencial uso como fuentes de carbono y energía. Tres aislados, identificados como pertenecientes al género *Enterobacter*, se destacaron por ser los más tolerantes a estos pesticidas.

Yuanyuan *et al.* (2017) realizaron una investigación en la que aislaron dos especies de hongos, *Aspergillus oryzae* y *Cladosporium cladosporioides*. Ambas cepas les proporcionaron etanol como fuente de carbono externa, estas cepas tienen la capacidad de metabolizar nitrógeno y fósforo provenientes de los organofosforados.

Finalmente, Umamaheswari y Palanimanickam (2016) determinaron que las cepas *Bacillus cereus* y *Aneurinibacillus migulanus* poseen resistencia y permiten la degradación de insecticidas organofosforados los cuales están asociadas a plásmidos, mientras que la resistencia a piretroides sintéticos está codificada en los cromosomas. Por tal motivo, en este trabajo se aislaron y caracterizaron microorganismos capaces de crecer con altas concentraciones de compuestos organofosforados específicamente el malatión, posteriormente se midió la capacidad de producción de fosfatasas para degradar dichos organofosforados.

Materiales y métodos

Recolección de muestras de suelo y raíces

Se recolectaron 6 muestras de suelo y 6 muestras de raíces de aguacate en un campo agrícola en el municipio de Gómez Farías, Jalisco (coordenadas: 19.474539, -103.463405) y se codificaron con “R” para raíz y “S” para suelo. Las muestras se colocaron a temperatura ambiente para su crecimiento (27 °C).

Preparación del inóculo

Para el aislamiento de microorganismos, se prepararon 10 mL de agua estéril en tubos Falcon, a los que se añadieron 100 µL de Tween 80 y se agitaron en un vórtex. En seis de estos tubos se añadió 1 g de tierra tamizada, y en los otros seis, 1 g de raíces tamizadas. Las muestras se homogenizaron en un vórtex, siguiendo la metodología adaptada de [Vazallo et al. \(2013\)](#).

Medios de Cultivo

Preparación de medios de cultivo

Se utilizaron dos medios de cultivo: Agar Dextrosa y Papa (PDA) de BD Bioxon®, y medio Miller, preparado con algunas modificaciones 10 g/L de peptona de caseína, 5 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de NaCl y 15 g/L de agar bacteriológico. Se prepararon cajas de Petri por triplicado con concentraciones de 6.15×10^{-7} ppm, 1.23×10^{-6} ppm y 2×10^{-6} ppm de malatión. Se añadieron 100 µL del inóculo preparado anteriormente y se incubaron a 30°C hasta observar crecimiento. Los cultivos fueron aislados con pases continuos hasta obtener cultivos puros, siguiendo el método de [Dighton \(1983\)](#).

Conservación de hongos

Los cultivos puros se mantuvieron en caldo de extracto de papa con glucosa y Tween 80 en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, incubados a 30°C durante 5 días. Posteriormente, el micelio fue raspado, filtrado, mezclado con glicerol al 50% y almacenado a -20°C, como lo describe [Paul et al. \(2015\)](#).

Análisis y Detección

Medios para mantenimiento

Se preparó un medio sólido 3 g/L de ácido fítico, 0.5 g/L sulfato de magnesio 0.5 g/L cloruro de potasio, 4 g/L de urea, 15 g/L de agar y 0.550 g/L de amoxicilina. Los hongos fueron sembrados y se incubaron a 30°C durante 5-7 días, siguiendo lo reportado por [Alcantar et al., 2011](#); [Sapna, et al., 2014](#); [Qasim et al., 2017](#).

Conteo de esporas

El conteo de esporas se realizó en medio Hagem (15 g/L de agar, 10 g/L de glucosa, 0.15 g/L de fosfato dipotásico, 0.35 g/L de fosfato monopotásico, 0.50 g/L sulfato de magnesio, 1 g/L de extracto de levadura y finalmente 1 g/L de peptona de caseína), modificado para omitir el uso de lactofenol, según [Bustillo \(2010\)](#). Los hongos fueron incubados a 30°C durante 5 días, y las esporas se contaron utilizando una cámara de Neubauer (ec. 1), siguiendo las ecuaciones estándar para determinar la concentración de esporas y el volumen de inóculo necesario para la fermentación sumergida (ec. 2).

$$\frac{\text{Cantidad de esporas}}{\text{mL}} = \left(\frac{\text{Cantidad de esporas contadas}}{\text{en los 10 cuadrantes}} \right) * (\text{Factor de dilución}) * (250,000) \quad 1$$

$$\text{Cantidad de inóculo (mL)} = \frac{(1 \times 10^6 \text{ esporas/mL})(25 \text{ mL})}{\text{Cantidad de esporas/mL}} \quad 2$$

Fermentación sumergida

La fermentación sumergida se llevó a cabo en medio Hagem sin agar y sin Tween 80, siguiendo la metodología de [Vázquez Montoya \(2019\)](#). Los cultivos se incubaron en agitación continua a 30°C durante 5 días.

Pruebas cuantitativas de fosfatasa

Para la cuantificación de fosfatasa, se prepararon tres soluciones. La solución A contenía agua, ácido sulfúrico al 6 N, molibdato de amonio al 2.5% y ácido ascórbico al 10%; solución B, agua, tris (hidroximetil) aminometano clorhidrato (Tris-HCl) y ácido fítico; solución C; agua y ácido tricloroacético al 15%. los reactivos se mezclaron siguiendo la metodología de [Kim et al. \(1998\)](#) con algunas modificaciones.

Una vez transcurridos los 5 días de incubación de la fermentación sumergida, se tomó 1 mL del contenido y se agregó en un tubo Eppendorf, el cual se centrifugo a 15,000 rpm a 4°C durante 15 minutos. Una vez centrifugado, se tomó el sobrenadante.

Teniendo listas las soluciones y el extracto enzimático por triplicado y con un control negativo, se añadió a un tubo de cristal 100 µL de extracto y 400 µL de solución B y se incubaron 30 minutos a 37°C. Una vez transcurrido ese tiempo, se agregaron 500 µL de solución C para detener la reacción, después se agregaron 4000 µL de solución A y finalmente se leyeron en el espectrofotómetro a 820 nm. Una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima que libera 1 micromol de fosfato inorgánico por minuto ([Pliego, et al, 2023](#); [Fiske y Subbarow, 1925](#)).

Curva de calibración

Se preparó una curva de calibración con 11 concentraciones por triplicado con intervalos de 400 μ M, utilizando soluciones de fosfato monopotásico al 0.05 M y la solución Fiske/Subbarow (ácido sulfúrico al 6 N, molibdato de amonio al 2.5%, y ácido ascórbico al 10%), obteniendo un coeficiente de correlación de 0.9795. Se midieron concentraciones en un espectrofotómetro a 820 nm, siguiendo la metodología de [Qasim et al. \(2017\)](#) y el método de [Fiske y Subbarow \(1925\)](#).

Microcultivos de los microorganismos aislados

Los microcultivos se realizaron en cajas de Petri por duplicado, utilizando un cuadro de PDA de 1x1 cm ubicado en un portaobjetos, inoculado en los cuatro laterales con un asa bacteriológica. Se incubaron a 30°C durante 24 horas, y el crecimiento se analizó bajo un microscopio Olympus CX31, siguiendo la metodología de [Siddiquee \(2017\)](#).

Resultados y Discusión

Características macroscópicas y microscópicas de los microorganismos aislados

Se aislaron 7 cepas a partir de la rizosfera de cultivos de aguacate capaces de crecer con concentraciones de malatión. Una vez aisladas estas cepas, fueron sometidas a un proceso minucioso de caracterización. Para llevar a cabo este análisis, se tomaron en cuenta las características tanto macroscópicas y microscópicas.

En la caracterización macroscópica, se evaluó; forma, crecimiento, elevación, márgenes, superficie, pigmentación y textura de las cepas. En la caracterización microscópica se identificaron los tipos de esporas y gemación.

Cepa RY11

En la Figura 1 se pueden observar las características macroscópicas y microscópicas con las que cuenta esta cepa. En la [Figura 1A](#), se observa que la cepa presenta una morfología circular con elevación plana, márgenes enteros y una superficie uniforme y lisa. Al iniciar el crecimiento, presenta una pigmentación central de tono gris, rodeada de un borde blanco, pero a medida que continúa su crecimiento, adquiere una coloración completamente verde. En cuanto a su textura, se observa que es algodonosa y pulverulenta, con un crecimiento limitado.

En la [Figura 1B](#) y C es posible observar que esta cepa presenta un micelio no septado, observándose sus hifas, y se logra distinguir un conidióforo ramificado y conidios, notando que a partir de las esporas presentes se van desarrollando hifas cenocíticas. Con base en la investigación de [Arias & Piñeros \(2008\)](#) y las características con la que esta cepa cuenta, podría coincidir con *Aspergillus aureolatus*.

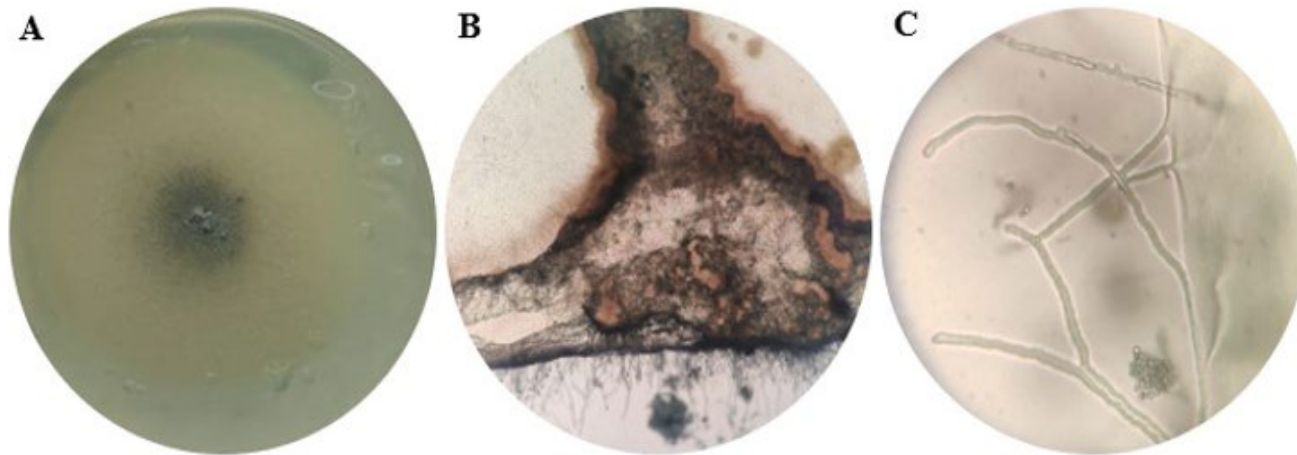


Figura 1. A) Visualización macroscópica de la cepa RY11. B) Vista microscópica a 10X. C) Vista microscópica a 100X Cepa RY11

Cepa SD31V

En la [Figura 2A](#) se observa un hongo con una elevación plana, creciendo en forma circular con margen irregular y con un crecimiento moderado, se puede observar también que cuenta con una superficie uniforme, aunque ligeramente rugosa en el centro, con una coloración blanca que conforme progresa en su crecimiento se torna completamente verde oscuro, con una textura algodonosa y pulverulenta sin presencia de exudados. En la [Figura 2B](#) y C se puede observar que la cepa cuenta con un conidióforo hemisférico con paredes lisas, no septado, distinguiéndose ligeramente su vesícula y los conidios a su alrededor.

Con base en la investigación de [Arias & Piñeros \(2008\)](#) y observando las características de esta cepa es posible mencionar que puede coincidir con *Aspergillus humicola* o *Aspergillus conicus*.

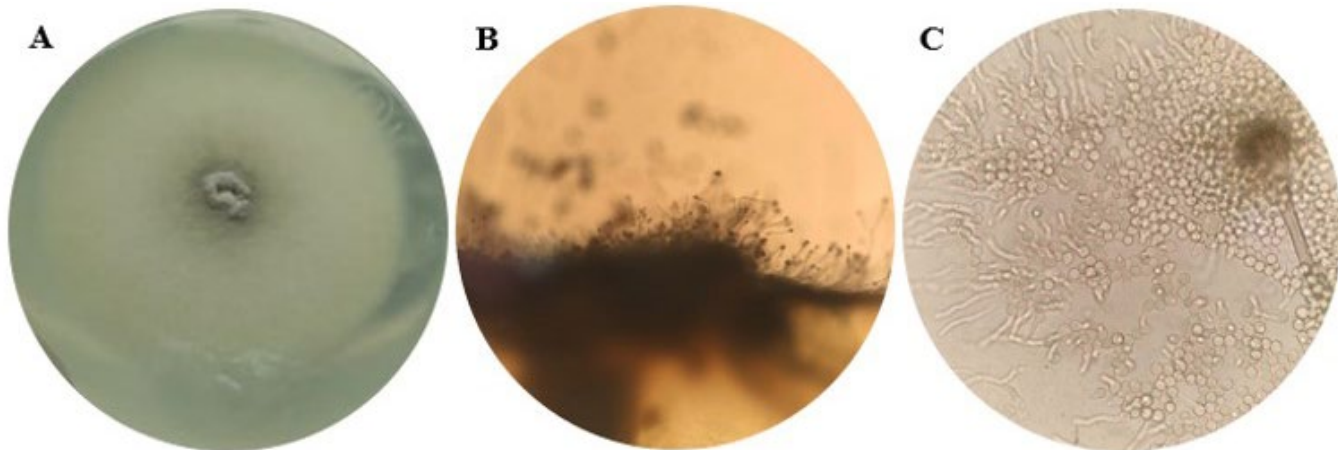


Figura 2. A) Visualización macroscópica de la cepa SD31V. B) Vista microscópica a 10X. C) Vista microscópica a 100X Cepa SD31V

Cepa SB3

En la [Figura 3A](#) se observa que el microorganismo tiene un crecimiento en forma irregular, no se observan sus márgenes, tiene una textura pulverulenta y al inicio su pigmentación es blanca, pero se va tornando verde.

Microscópicamente es posible observar que cuenta con micelio cenocítico no septado, así mismo cuenta con conidióforos hialinos con vesícula hemisférica, también se pueden apreciar las fiálides y algunos conidios en ellos [Figura 3B y C](#). Con base en la investigación de [Aristizábal Quintero \(2022\)](#) y observando las características de esta cepa puede coincidir con las características reportadas de *Aspergillus fumigatus*.

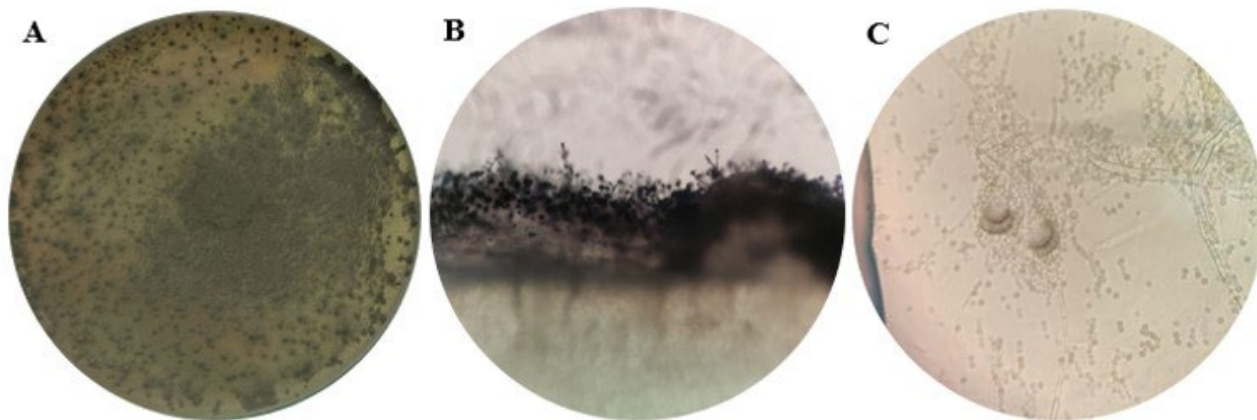


Figura 3. A) Visualización macroscópica de la cepa SB3. B) Vista microscópica a 10X. C) Vista microscópica a 100X Cepa SB3

Cepa SD2V3

En la [Figura 4A](#) es posible observar una cepa que cuenta con un crecimiento moderado en forma irregular, con una elevación plana y con márgenes irregulares y sumergidos, se puede observar también que cuenta con una superficie lisa, una textura pulverulenta y con una tonalidad verde. Microscópicamente se puede observar con el objetivo a 10X que esta cepa cuenta con conidióforos con vesículas hemisféricas y con el objetivo a 100X se puede observar más de cerca que cuenta con un micelio cenocítico hialino ver [Figura 4B y C](#).

Con base en las investigaciones de [Aristizábal Quintero, \(2022\)](#) y [Béjar, \(2019\)](#) fue posible observar que el microorganismo podría coincidir con *Aspergillus fumigatus*.

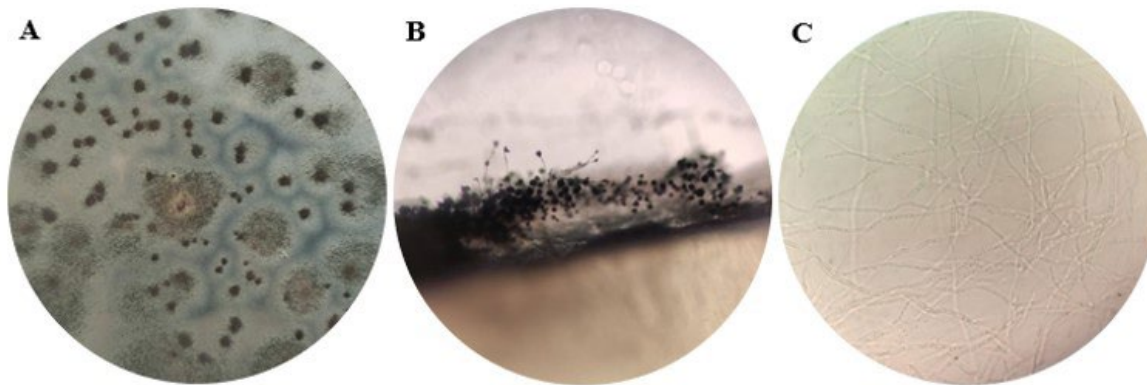


Figura 4. A) Visualización macroscópica de la cepa SD2V3. B) Vista microscópica a 10X. C) Vista microscópica a 100X de la cepa SD2V3.

Cepa RA3

En la [Figura 5A](#) se tiene una cepa con un crecimiento irregular, al inicio de su crecimiento tiene una textura algodonosa de color blanco, pero después se va tornando a una textura vellosa y granular color verde oscuro, cuenta con un margen entero sumergido y con una elevación limitada. Se observa que, a diferencia de las cepas anteriores, esta cuenta con un micelio considerablemente más grande, notando la presencia de conidióforos radiales hialinos y lisos y a su vez se logran ver conidios que se van desprendiendo para llevar a cabo su reproducción ver [Figura 5B y C](#). Con base en las investigaciones de [Cardoza Ipanaque, \(2019\)](#); [Qasim et al., \(2017\)](#) es posible observar la coincidencia con cepas de *Aspergillus niger* ó *Aspergillus tubingensis* SKA.

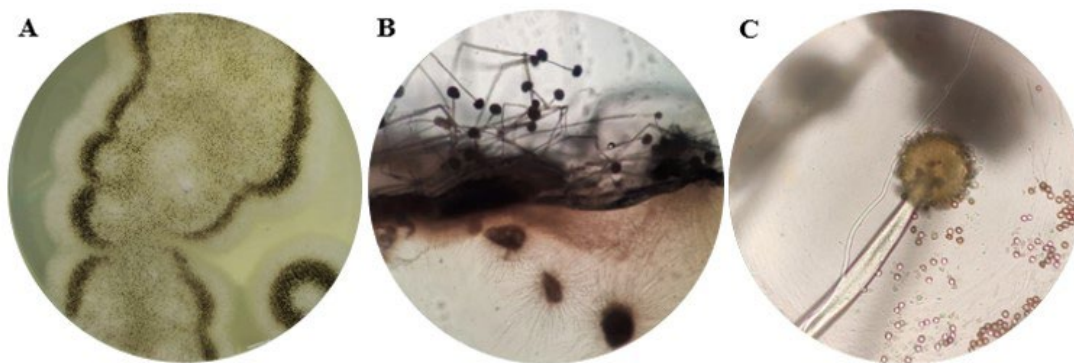


Figura 5. A) Visualización macroscópica de la cepa RA3. B) Vista microscópica a 10X. C) Vista microscópica a 100X de la Cepa RA3.

Cepa SD3121

En la [Figura 6A](#) se observa que esta cepa cuenta con un crecimiento acelerado e irregular por lo cual no se logran apreciar los márgenes, su textura es pulverulenta y al inicio su pigmentación es blanca pero conforme continúa su crecimiento, se torna verde.

Microscópicamente es posible apreciar que esta cepa cuenta con un micelio cenocítico, también se aprecian conidióforos ramificados con paredes lisas, no septados, hialinos y así mismo se pueden apreciar sus filídes y sus cadenas conidiales largas [Figura 6B y C](#). Comparando la cepa SD312 con las investigaciones de [Aristizábal Quintero \(2022\)](#) y [Béjar \(2019\)](#) se pudieron encontrar coincidencias con *Aspergillus fumigatus*, sin embargo, se observaron ligeras discrepancias, posiblemente atribuibles a variaciones originadas por la adaptación de la cepa a las condiciones específicas de la región.

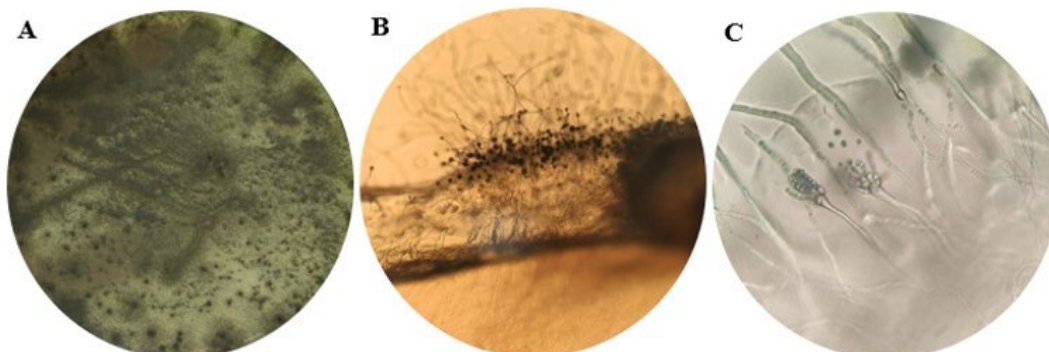


Figura 6. A) Visualización macroscópica de la cepa SD3121. B) Vista microscópica a 10X. C) Vista microscópica a 100X de la Cepa SD3121.

Cepa SD1222

En la [Figura 7A](#) se observa un microorganismo que cuenta con un crecimiento moderado en forma circular, con márgenes enteros e irregulares, cuenta con una elevación plana y una superficie uniforme, su textura es algodonosa y su pigmentación inicial es gris-blanca, pero se torna en blanca-verdosa.

En la [Figura 7B y C](#) se observa que la cepa cuenta con un micelio cenocítico, contando con la presencia de conidióforos con vesículas radiales y conidios globosos, así mismo se observa como a partir de los conidios germinan y van desarrollando tubos germinales para de esta forma continuar con su ciclo de reproducción. Con base en la investigación de [Arias & Piñeros \(2008\)](#) y observando las características de SD1222 es posible que coincida con *Aspergillus humicola*.

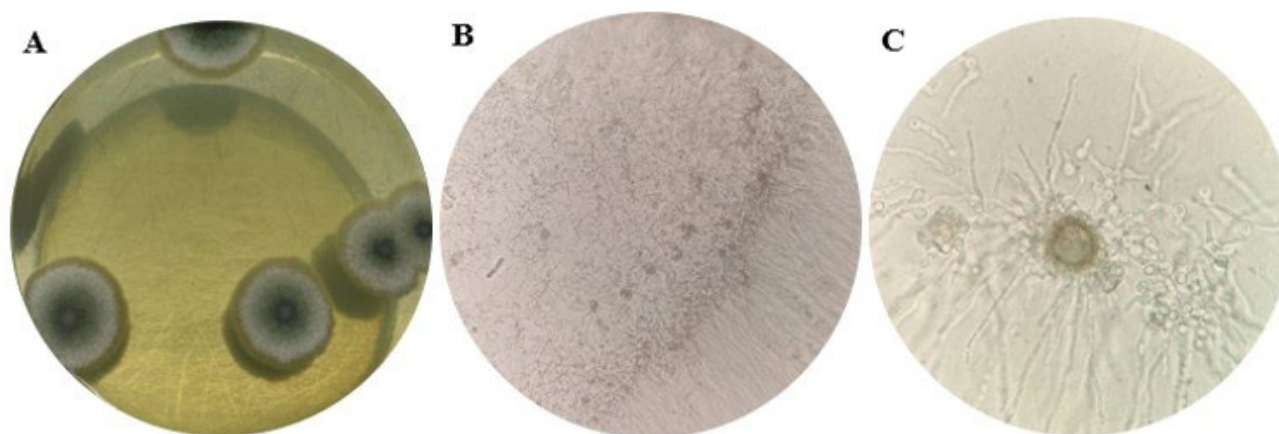


Figura 7. A) Visualización macroscópica de la cepa SD1222. B) Vista microscópica a 10X. C) Vista microscópica a 100X de la 105 Cepa SD1222.

A través de esta comparación, se identificaron posibles coincidencias con especies conocidas, lo que permite inferir la identidad de cada cepa, sin embargo, se pretende realizar una identificación molecular de cada microorganismo. Por otro lado, las cepas SB3, SD2V3, y SD3121 compartieron varias características tanto a nivel macroscópico como microscópico, sugiriendo una alta probabilidad de que pertenezcan a la especie *Aspergillus fumigatus*, tal como se ha observado en estudios previos por [Aristizábal Quintero \(2022\)](#) y [Béjar \(2019\)](#). Estas cepas se distinguieron por su crecimiento irregular y pulverulento, y por sus conidióforos hialinos y no septados, lo que es típico de *A. fumigatus*. Sin embargo, se observaron algunas diferencias sutiles en la estructura y disposición del micelio y conidióforos, lo que sugiere la posibilidad de variabilidad intraespecífica o la presencia de cepas estrechamente relacionadas.

Prueba cuantitativa de actividad fosfatasa

Se llevó a cabo una fermentación sumergida durante 5 días tomando como base la metodología descrita por [Vázquez Montoya \(2019\)](#), esto con la finalidad de obtener un extracto enzimático y posteriormente cuantificar la actividad enzimática fosfatasa presente en cada una de las cepas aisladas utilizando la metodología descrita por [Kim et al. \(1998\)](#).

En la [Figura 8](#), en el eje “x” se observa cada uno de los microorganismos que se sometieron a las pruebas enzimáticas y en el eje “y” la actividad enzimática representada en U/L, al observar la gráfica se puede notar la diferencia de actividad enzimática entre cada una de las cepas. Las cepas SD31V y SD3121 destacaron con una actividad enzimática de 1160.459 U/L y con 854.608 U/L respectivamente. En contraste, la cepa SD2V3 muestra la menor actividad enzimática con 99.290 U/L, seguida de cerca por las cepas SB3, SD1222 y RA3.

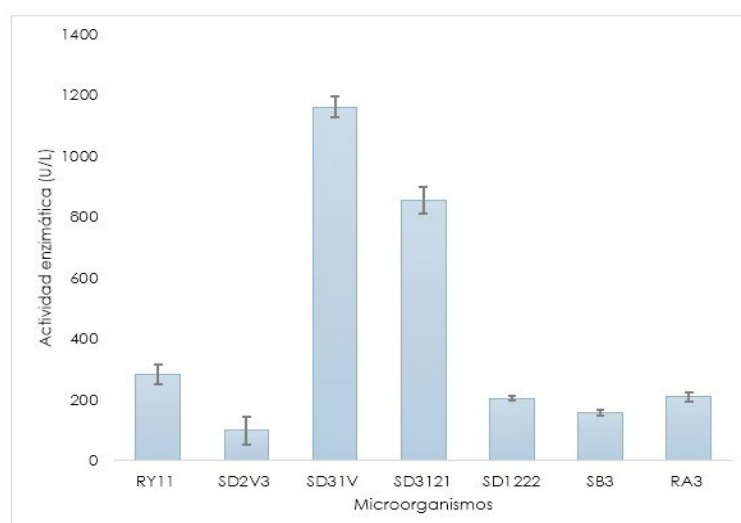


Figura 8. Comparación de las actividad enzimática fosfatasa de las cepas aisladas.

Las actividades enzimáticas fosfatasa determinadas para las cepas SD31V (1160.459 U/L) y SD3121 (854.608 U/L) se consideran elevadas en comparación con valores previamente reportados para hongos solubilizadores de fosfato del suelo, que oscilan entre 2.38 y 1100 U/L ([Qasim et al., 2017](#); [Gómez et al., 2004](#)). En contraste, las cepas restantes que mostraron un rango inferior a las 300 U/L, aunque sigue dentro del rango funcional se considera una actividad baja.

Los resultados indican que las cepas SD31V y SD3121 son las de mayor relevancia para proseguir con los estudios de actividad enzimática y de optimización de las condiciones de crecimiento. Con base a las características macroscópicas y microscópicas, la cepa SD31V coincide con dos especies del mismo género las cuales son *Aspergillus humicola* o *Aspergillus conicus*, tomando como base las características presentes en la bibliografía encontrada, [Arias & Piñeros \(2008\)](#). Por otra parte, al observar las características microscópicas, la cepa SD3121 coincide con *Aspergillus fumigatus* con base a las características descritas en la investigación de [Aristizábal Quintero \(2022\)](#) y [Béjar \(2019\)](#).

Es importante destacar que se han llevado a cabo investigaciones previas que abordan este género. Por ejemplo, el estudio realizada por [Juárez, \(2020\)](#), el cual resalta el potencial biotecnológico del género *Aspergillus* para la biorremediación.

Sin embargo, es necesario llevar a cabo estudios moleculares para identificación de las cepas y optimización en la generación de actividades enzimáticas de las cepas antes mencionadas.

Conclusiones

Se aislaron siete cepas de hongos utilizando medios de cultivo con diferentes concentraciones de organofosforados, para luego proceder con su conservación. Con base en las características macroscópicas y microscópicas obtenidas, se realizó una caracterización general de las cepas, coincidiendo con el género *Aspergillus*, las cepas encontradas se asemejan con *A. aureolatus*, *A. humicola*, *A. conicus*, *A. fumigatus*, *A. niger* y *A. tubingensis*, de acuerdo con la literatura consultada.

Asimismo, se determinó la actividad fosfatasa en las siete cepas, siendo la cepa SD31V/*Aspergillus humicola* o *Aspergillus conicus* la que mostró la mayor actividad enzimática y por lo tanto un mayor potencial para el uso en la degradación de pesticidas organofosforados.

Declaraciones

Fondos: Este estudio fue realizado dentro del marco del proyecto con financiamiento “Aislamiento, identificación y caracterización de microorganismos de origen agrícola productores de enzimas hidrolíticas con potencial de aplicación biotecnológica en la región sur de Jalisco” con número de registro: SAC/CIP/D/11/21, dentro de las instalaciones del Centro Universitario del Sur de la Universidad de Guadalajara.

Conflicto de intereses: Los autores no tienen intereses financieros o no financieros relevantes que revelar.

Cumplimiento de estándares éticos: No se realizó ningún experimento con animales o personas. El proyecto fue aprobado por el Comité Técnico de Investigación del Centro Universitario del Sur de la Universidad de Guadalajara.

Contribuciones de autor

PSJE: Conceptualización, Metodología, Redacción, Borrador Original, Revisión y Edición, Supervisión.

RNLA: Conceptualización, Metodología, Redacción, Borrador Original, Revisión y Edición

CMAL: Redacción, Borrador Original.

RBR: Redacción, Borrador Original, Revisión y Edición.

IMLE: Redacción, Borrador Original, Revisión y Edición.

HAOA: Redacción, Borrador Original, Revisión y Edición.

Disponibilidad de datos: Los conjuntos de datos analizados en el presente estudio pertenecen a la Universidad de Guadalajara y no son de acceso público, pero están disponibles a través del autor de correspondencia, previa solicitud razonable.

Referencias bibliográficas

- Alcantar, X., Sandoval, G., Mateos, J., Rodríguez, J. & Camacho, R. (2011, 19-24 de Junio). Búsqueda de hongos termófilos productores de fitasas [Cartel]. XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Querétaro, México. <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1023/198>
- Arias, E., & Piñeros, P. (2008). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. Tesis doctoral, Central-South University of Technology, China, 76(3), 61–64. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10554/8233>
- Aristizábal Quintero, M. (2022). Caracterización morfológica y molecular de *Aspergillus* sección *Fumigati*, obtenidos del cepario del grupo Biología Celular y Molecular CIB-UdeA en Medellín. <https://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/31866>
- Aroniadou-Anderjaska, V., Figueiredo, T. H., de Araujo Furtado, M., Pidoplichko, V. I., & Braga, M. F. M. (2023). Mechanisms of Organophosphate Toxicity and the Role of Acetylcholinesterase Inhibition. *Toxics*, 11(10), 866. <https://doi.org/10.3390/toxics11100866>
- Béjar Castillo, V. R., Villanueva, F., León, S. R., Guevara-Granados, J. M., Uribe, A., Vergaray, G., Cuadra, A., & Sabogal, I. (2019). Molecular identification of *Aspergillus fumigatus* isolated from patients with invasive aspergillosis. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 36(1), 81–86. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.361.3403>
- Bhandari, S., Poudel, D. K., Marahatha, R., Dawadi, S., Khadayat, K., Phuyal, S., Shrestha, S., Gaire, S., Basnet, K., Khadka, U., & Parajuli, N. (2021). Microbial enzymes used in bioremediation. *Journal of Chemistry*, 2021. Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2021/8849512>
- Bustillo, A. E. (2010). Método para cuantificar suspensiones de esporas de hongos y otros organismos. *ResearchGate*, 5. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3594.5128>
- Cardoza Ipanaque, J. A. (2019). Especies de *Aspergillus* de cepas aisladas del aire de la ciudad de Piura - Perú entre julio y octubre del 2017. [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Piura]. Recuperado de https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/RUMP_8f50582e259848312f24ff649553876e
- Dighton, J. (1983). Phosphatase production by mycorrhizal fungi. Tree Root Systems and Their Mycorrhizas, W. Junk Publishers, 71(62), 455–462. https://doi.org/10.1007/978-94-009-6833-2_51
- Fiske, C. H., & Subbarow, Y. (1925). The colorimetric determination of phosphorus. *The Journal of Biological Chemistry*, 66(2), 375–400.
- Gómez-Guiñán, Y.. (2004). Actividad de las fosfatasa ácidas y alcalinas (extracelulares e intracelulares) en hongos de la rizosfera de *Arachis hypogaea* (Papilionaceae). *Revista de Biología Tropical*, 52(1), 287-295. Retrieved June 13, 2025, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442004000100035&lng=en&tlng=es.
- Hernández, Moreno, & Sandoval. (2017). Tratamiento de aguas residuales industriales en México: Una aproximación a su situación actual y retos por atender Industrial. *Revista Internacional de Desarrollo Sustentable*, 2, 75–88.
- Hernández Ruiz, G. M., Álvarez Orozco, N. A., & Ríos Osorio, L. A. (2017). Biorremediación de organofosforados por hongos y bacterias en suelos agrícolas: Revisión sistemática. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(1), 139–159. https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num1_art:564
- Ibrahim, G., Amin, M. K., Hassan, A. A., & El-Sheikh, E. S. (2015). Identification of pesticides degrading bacteria isolated from Egyptian soil. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 42, 1129-1143.
- Juárez, L. (2020). Evaluación de tres hongos con potencial de biorremediación de gasolina magna en presencia de un polvo sorbente oleofílico (Tesis de licenciatura, CEIB Centro de Investigación en Biotecnología UAEM). 67 pp. <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/1267>
- Kim, Y.-O., Kim, H.-K., Bae, K.-S., Yu, J.-H., & Oh, T.-K. (1998). Purification and properties of a thermostable phytase from *Bacillus* sp. DS11. *Enzyme and Microbial Technology*, 22(1), 2–7. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(97\)00096-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0141-0229(97)00096-3)
- Loh, Z. Z., Zaidi, N. S., Yong, E. L., & others. (2022). Current status and future research trends of biofiltration in wastewater treatment: A bibliometric review. *Current Pollution Reports*, 8, 234–248. <https://doi.org/10.1007/s40726-022-00224-9>

- Maldonado Toro, L. F. (2017). *Evaluación de la biodegradación de un insecticida organofosforado en muestras de suelo de cultivo de papa mediante Trichoderma harzianum y Pleurot* (Tesis de pregrado, Universidad Colegio Mayor De Cundinamarca). 1–100. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Mateescu, C., Lungulescu, E.-M., & Nicula, N.-O. (2024). Effectiveness of biological approaches for removing persistent organic pollutants from wastewater: A mini-review. *Microorganisms*, 12, 1632. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12081632>
- Monforte García, G., & Cantú Martínez, P. C. (2015). Escenario del agua en México. *Cultura Científica Y Tecnológica*, (30). Recuperado a partir de <https://revistas.uacj.mx/ojs/index.php/culeyt/article/view/356>
- Umamaheswari, S., & Palanimanickam, A. (2016). Prevalence of pesticide degrading bacteria in paddy crop field. *Der Pharmacia Lettre*, 8(1), 281–295.
- Paul, J. S., Tiwari, K. L., & Jadhav, S. K. (2015). Long term preservation of commercial important fungi in glycerol at 4°C. *International Journal of Biological Chemistry*, 9(2), 79–85. <https://doi.org/10.3923/ijbc.2015.79.85>
- Pliego-Sandoval, J. E., Díaz-Barbosa, A., Reyes-Nava, L. A., Angeles Camacho-Ruiz, M., Iñiguez-Muñoz, L. E., & Pinto-Pérez, O. (2023). Development and Evaluation of a Low-Cost Triglyceride Quantification Enzymatic Biosensor Using an Arduino-Based Microfluidic System. *Biosensors*, 13(8). <https://doi.org/10.3390/bios13080826>
- Qasim, S. S., Shakir, K. A., Al-Shaibani, A. B., & Walsh, M. K. (2017). Optimization of Culture Conditions to Produce Phytase from *Aspergillus tubingensis* SKA. *Food and Nutrition Sciences*, 08(07), 733–745. <https://doi.org/10.4236/fns.2017.87052>
- Rasool, S., Rasool, T., & Gani, K. M. (2022). A review of interactions of pesticides within various interfaces of intrinsic and organic residue amended soil environment. *In Chemical Engineering Journal Advances*, (11). <https://doi.org/10.1016/j.ceja.2022.100301>
- Santillán, J. Y., & Iribarren, A. M. (2019). Fosfohidrolasas aplicadas en biocatálisis y biorremediación. 13(3).
- Sapna, & Singh, B. (2014). Phytase production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation and its applicability in dephytinization of wheat bran [corrected]. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173(7), 1885–1895. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0974-3>
- Saborío Cervantes, Ishtar Estefanía, Mora Valverde, Mónica, & Durán Monge, María del Pilar. (2019). Intoxicación por organofosforados. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1), 110-117. Retrieved October 05, 2024, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152019000100110&lng=en&tlng=es.
- Siddiquee, S. (2017). Slide Culturing of Trichoderma Isolates. In Practical Handbook of the Biology and Molecular Diversity of *Trichoderma* Species from Tropical Regions. *Fungal Biology. Springer*, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-64946-7_3
- Sivaperumal, P., Kamala, K., & Rajaram, R. (2017). Chapter eight - Bioremediation of industrial waste through enzyme producing marine microorganisms. In S.-K. Kim & F. Toldrá (Eds.), *Advances in food and nutrition research* (Vol. 80, pp. 165–179). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.006>
- Vargas Zamarripa, D. M., Serafín Muñoz, A. H., Ramírez García, G., Gutiérrez Granados, S., & Noriega Luna, B. (2008). Nanosensores ópticos basados en dispersión Raman de superficie mejorada (SERS). para la determinación de pesticidas organofosforados en aguas contaminadas. 2, 32–41. <http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/5505>
- Vázquez Montoya, E. L. (2019). *Producción de celulasas en fermentación sumergida utilizando microorganismos aislados de Moringa oleifera con potencial aplicación en procesos biotecnológicos* (Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional). Guasave, Sinaloa, México
- Yuanyuan, H., Renbang, Z., Huiyan, Z., Weihua, L., Jun, L., Mengying, S., & Yang, W. (2017). Biodegradation of organophosphorous pesticides by two fungi isolated from pesticide contaminated soils. *Bangladesh Journal of Botany*, 46(3), 1045–1055.