

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), marzo-abril 2026,
Volumen 10, Número 2.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v10i2

**COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD
BIORREMIEDIADORA ENTRE PSEUDOMONAS
PUTIDA (B-14878) Y UNA CEPA NATIVA DE
PSEUDOMONAS SP. EN LA DEGRADACIÓN DE
ACEITES RESIDUALES AUTOMOTRICES DE
SUELOS CONTAMINADOS EN TALLERES
MECÁNICOS DE
LA AVENIDA JOSÉ PARDO, CHIMBOTE**

COMPARISON OF THE BIOREMEDIATION CAPACITY BETWEEN
PSEUDOMONAS PUTIDA (B-14878) AND A NATIVE STRAIN OF PSEUDOMONAS
SP. IN THE DEGRADATION OF WASTE AUTOMOTIVE OILS IN CONTAMINATED
SOILS FROM MECHANICAL WORKSHOPS ON JOSÉ PARDO AVENUE,
CHIMBOTE

Víctor Eduardo Lecca Zavaleta
Universidad Nacional del Santa, Perú

Eterio Amaranto Alva Muñoz
Universidad Nacional del Santa, Perú

Linda Eddy Espejo Vargas
Universidad Nacional del Santa, Perú

Comparación de la Capacidad Biorremediadora entre *Pseudomonas Putida* (B-14878) y una Cepa Nativa de *Pseudomonas Sp.* en la Degradación de Aceites Residuales Automotrices de Suelos Contaminados en Talleres Mecánicos de la Avenida José Pardo, Chimbote

Víctor Eduardo Lecca Zavaleta¹

[vlecca@uns.edu.pe](mailto: vlecca@uns.edu.pe)

<https://orcid.org/0000-0002-3759-8128>

Universidad Nacional del Santa

Perú

Eterio Amaranto Alva Muñoz

[ealva@uns.edu.pe](mailto: ealva@uns.edu.pe)

<https://orcid.org/0000-0002-4113-7981>

Universidad Nacional del Santa

Perú

Linda Eddy Espejo Vargas

[lespejo@uns.edu.pe](mailto: lespejo@uns.edu.pe)

<https://orcid.org/0000-0001-8175-3941>

Universidad Nacional del Santa

Perú

RESUMEN

La contaminación de suelos por aceites residuales automotrices representa un problema ambiental persistente en entornos urbanos, debido a la toxicidad y recalcitrancia de los hidrocarburos derivados del petróleo. El presente estudio tuvo como objetivo comparar la capacidad biorremediadora de *Pseudomonas putida* CECT B-14878 y una cepa nativa de *Pseudomonas sp.* en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en suelos contaminados provenientes de talleres mecánicos de la Avenida José Pardo, Chimbote. Se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado con tres tratamientos y evaluaciones sucesivas durante 30 días en microcosmos de suelo. La cuantificación de TPH se realizó mediante cromatografía de gases. La cepa nativa alcanzó una remoción del 62.76% de TPH, frente al 45.82% de *P. putida*, mientras que el control abiótico presentó apenas un 7.23%, lo que sugiere que la actividad biológica constituye el principal mecanismo de degradación. Se observó además una correlación positiva significativa entre el crecimiento bacteriano y la eficiencia de degradación ($r_s = 0.900$; $p = 0.037$). Estos hallazgos sugieren que las cepas nativas representan una alternativa potencialmente más eficiente y sostenible para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos en contextos urbanos.

Palabras clave: biorremediación, hidrocarburos totales de petróleo, pseudomonas sp., cepa nativa, suelos contaminados

¹ Autor principal

Correspondencia: [vlecca@uns.edu.pe](mailto: vlecca@uns.edu.pe)

Comparison of the Bioremediation Capacity Between *Pseudomonas Putida* (b-14878) and a Native Strain of *Pseudomonas* sp. in the Degradation of Waste Automotive Oils in Contaminated Soils from Mechanical Workshops on José Pardo Avenue, Chimbote

ABSTRACT

Soil contamination by waste automotive oils represents a persistent environmental problem in urban settings due to the toxicity and recalcitrance of petroleum-derived hydrocarbons. The aim of this study was to compare the bioremediation capacity of *Pseudomonas putida* CECT B-14878 and a native strain of *Pseudomonas* sp. in the degradation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in contaminated soils collected from mechanical workshops located on José Pardo Avenue, Chimbote. A completely randomized experimental design with three treatments and successive evaluations over 30 days in soil microcosms was employed. TPH quantification was carried out by gas chromatography. The native strain achieved 62.76% TPH removal, compared with 45.82% for *P. putida*, whereas the abiotic control showed only 7.23%, suggesting that biological activity was the main mechanism involved in hydrocarbon degradation. A significant positive correlation was also observed between bacterial growth and degradation efficiency ($r_s = 0.900$; $p = 0.037$). These findings suggest that native strains may represent a potentially more efficient and sustainable alternative for the bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils in urban environments.

Keywords: bioremediation, total petroleum hydrocarbons, pseudomonas sp, native strain, contaminated soils

*Artículo recibido 02 abril 2026
Aceptado para publicación: 30 abril 2026*



INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental por hidrocarburos derivados del petróleo constituye uno de los problemas más persistentes y complejos en los ecosistemas terrestres, debido a la naturaleza química recalcitrante de estos compuestos y su elevada toxicidad. A nivel global, las actividades industriales, el transporte y el manejo inadecuado de residuos petroleros han incrementado significativamente la presencia de contaminantes orgánicos en el suelo, afectando su estructura, funcionalidad y capacidad productiva (Truskewycz et al., 2019). En particular, los aceites residuales automotrices representan una fuente relevante de contaminación difusa, ya que contienen mezclas complejas de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, incluyendo hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs), los cuales presentan propiedades mutagénicas, carcinogénicas y altamente persistentes en el ambiente (Ghosal et al., 2016).

Cuando estos compuestos son liberados al suelo, generan alteraciones significativas en sus propiedades fisicoquímicas, como la disminución de la porosidad, la reducción de la capacidad de retención de agua y la alteración del pH, lo que repercute directamente en la actividad microbiana y en la biodiversidad edáfica (Varjani & Upasani, 2017). Asimismo, la presencia de hidrocarburos interfiere con los procesos biogeoquímicos naturales, limitando la disponibilidad de nutrientes y afectando la regeneración de los ecosistemas. Este fenómeno es especialmente crítico en entornos urbanos donde la contaminación suele ser continua y acumulativa, como ocurre en zonas con alta densidad de talleres mecánicos.

En este contexto, los talleres automotrices se constituyen como puntos focales de contaminación por aceites residuales, debido a la inadecuada disposición de estos desechos y la ausencia de sistemas eficientes de gestión ambiental. En muchas ciudades de países en desarrollo, incluyendo Perú, estos residuos son vertidos directamente al suelo sin tratamiento previo, generando acumulación progresiva de contaminantes y aumentando el riesgo de lixiviación hacia cuerpos de agua subterráneos (Truskewycz et al., 2019). Esta situación no solo compromete la calidad ambiental, sino que también representa un riesgo significativo para la salud humana, dado que los compuestos derivados del petróleo pueden ingresar a la cadena trófica mediante procesos de bioacumulación.

Además, la persistencia de estos contaminantes dificulta su eliminación mediante procesos naturales, lo que hace necesario el desarrollo de estrategias de remediación eficientes y sostenibles.



Si bien existen métodos fisicoquímicos para la remoción de hidrocarburos, estos suelen implicar altos costos operativos y pueden generar impactos secundarios en el ambiente, como la emisión de gases contaminantes o la generación de residuos secundarios (Varjani & Upasani, 2017). En consecuencia, la búsqueda de alternativas más sostenibles ha orientado la investigación científica hacia enfoques basados en procesos biológicos, que permitan la degradación efectiva de estos compuestos en condiciones ambientales reales.

En respuesta a la problemática asociada a la contaminación por hidrocarburos, la biorremediación ha emergido como una estrategia eficaz y ambientalmente sostenible para la restauración de suelos contaminados. Este enfoque se basa en la capacidad metabólica de diversos microorganismos para utilizar compuestos orgánicos contaminantes como fuente de carbono y energía, transformándolos en productos menos tóxicos o completamente mineralizados, como dióxido de carbono y agua (Ławniczak et al., 2020). A diferencia de los métodos fisicoquímicos convencionales, la biorremediación presenta ventajas significativas en términos de costo, impacto ambiental y recuperación funcional del ecosistema, lo que la posiciona como una alternativa prioritaria en la gestión ambiental moderna (Rehman et al., 2021).

El proceso de biodegradación de hidrocarburos involucra una serie de reacciones enzimáticas catalizadas por microorganismos especializados, en las cuales enzimas como monooxigenasas y dioxigenasas desempeñan un papel clave en la oxidación inicial de compuestos complejos. Estas reacciones permiten la conversión de hidrocarburos hidrofóbicos en intermediarios más polares, facilitando su posterior metabolización a través de rutas centrales del metabolismo microbiano (Ghosal et al., 2016). Sin embargo, la eficiencia de estos procesos depende de múltiples factores, entre los que destacan la biodisponibilidad del contaminante, las condiciones fisicoquímicas del suelo y la composición de la comunidad microbiana presente (Varjani & Upasani, 2017).

Dentro de los microorganismos con potencial biorremediador, el género *Pseudomonas* ha sido ampliamente estudiado debido a su notable versatilidad metabólica y capacidad para degradar una amplia gama de compuestos orgánicos, incluidos hidrocarburos alifáticos y aromáticos. En particular, *Pseudomonas putida* es considerada un organismo modelo en biotecnología ambiental, ya que posee sistemas enzimáticos altamente eficientes y rutas metabólicas bien caracterizadas que le permiten



adaptarse a diferentes condiciones ambientales y degradar contaminantes recalcitrantes (Nikel & de Lorenzo, 2018). Además, esta especie tiene la capacidad de producir biosurfactantes, compuestos que incrementan la solubilidad de los hidrocarburos hidrofóbicos, mejorando su biodisponibilidad y facilitando su degradación (Jacob et al., 2022).

Por otro lado, la eficiencia de la biorremediación puede incrementarse mediante estrategias como la bioaumentación y la bioestimulación. La bioaumentación implica la introducción de cepas microbianas específicas con alta capacidad degradativa, mientras que la bioestimulación consiste en la adición de nutrientes o condiciones que favorezcan la actividad de los microorganismos nativos (Ławniczak et al., 2020). No obstante, la selección de microorganismos adecuados sigue siendo un factor crítico, ya que la interacción entre las cepas introducidas y el entorno puede influir significativamente en los resultados del proceso de remediación.

En el contexto de la biorremediación de suelos contaminados, la selección de los microorganismos adecuados constituye un factor determinante en la eficiencia del proceso. Tradicionalmente, se han empleado cepas de colección ampliamente caracterizadas, como *Pseudomonas putida*, debido a la disponibilidad de información sobre sus rutas metabólicas y su capacidad demostrada para degradar hidrocarburos. Sin embargo, en los últimos años ha cobrado relevancia el uso de cepas nativas, las cuales presentan adaptaciones específicas a las condiciones ambientales del sitio contaminado, lo que puede conferirles ventajas competitivas en términos de supervivencia, actividad metabólica y eficiencia degradativa (Rodríguez-Uribe et al., 2021).

Las cepas autóctonas suelen formar parte de comunidades microbianas previamente expuestas a contaminantes, lo que favorece procesos de adaptación evolutiva y selección natural que optimizan su capacidad para metabolizar compuestos tóxicos. En este sentido, diversos estudios han demostrado que los consorcios microbianos nativos pueden alcanzar tasas de degradación superiores a las obtenidas con cepas exógenas, especialmente en condiciones ambientales complejas donde factores como el pH, la salinidad y la disponibilidad de nutrientes limitan la actividad microbiana (Ławniczak et al., 2020). No obstante, esta mayor eficiencia potencial no siempre es predecible, ya que depende de la interacción entre múltiples variables ambientales y biológicas.



A pesar de los avances en el conocimiento de la biodegradación de hidrocarburos, persiste una brecha importante en la comparación sistemática entre cepas estándar y cepas nativas en condiciones específicas de contaminación, particularmente en contextos urbanos de países en desarrollo. En ciudades como Chimbote, donde la actividad mecánica genera focos localizados de contaminación por aceites residuales automotrices, existe una limitada evidencia científica sobre la eficacia comparativa de estrategias de biorremediación adaptadas a las condiciones locales. Esta falta de información restringe la implementación de soluciones biotecnológicas optimizadas y contextualizadas.

En este escenario, la presente investigación se orienta a comparar la capacidad biorremediadora de *Pseudomonas putida* (CECT B-14878) y una cepa nativa de *Pseudomonas* sp. en la degradación de aceites residuales automotrices en suelos contaminados de talleres mecánicos ubicados en la Avenida José Pardo, Chimbote. Este enfoque permitió no solo evaluar la eficiencia de degradación de ambas cepas, sino también generar evidencia científica que contribuya al diseño de estrategias de biorremediación más efectivas, sostenibles y adaptadas a las condiciones ambientales locales, fortaleciendo así el uso de herramientas biotecnológicas en la gestión de suelos contaminados.

METODOLOGÍA

El estudio se desarrolló bajo un enfoque experimental cuantitativo, empleando un diseño experimental completamente aleatorizado con tres tratamientos y evaluaciones sucesivas en cinco tiempos, con el objetivo de comparar la capacidad biorremediadora de *Pseudomonas putida* CECT B-14878 y una cepa nativa de *Pseudomonas* sp. en la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados con aceites residuales automotrices.

Las muestras de suelo fueron recolectadas en cinco talleres mecánicos ubicados en la Avenida José Pardo (Chimbote, Perú), seleccionados en función de la presencia visible de contaminación por aceites residuales y la ausencia de tratamientos previos de remediación. En cada sitio se tomaron muestras a una profundidad de 0–10 cm, las cuales fueron combinadas para obtener muestras compuestas representativas. El material fue transportado en condiciones de refrigeración (4 °C) y procesado dentro de las 24 horas posteriores a su recolección.

El suelo fue homogenizado mediante tamizado (malla de 2 mm) y caracterizado fisicoquímicamente.



El pH se determinó en suspensión suelo:agua (1:2), la humedad por secado gravimétrico a 105 °C, la materia orgánica mediante el método de Walkley-Black y la textura por el método del hidrómetro. La concentración inicial de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) se cuantificó mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID), previa extracción con solvente orgánico.

Para el aislamiento de la cepa nativa, se realizaron diluciones seriadas del suelo en solución salina estéril y se sembraron en medio selectivo para el género *Pseudomonas*. Las colonias obtenidas fueron purificadas y caracterizadas mediante pruebas microbiológicas estándar, incluyendo tinción de Gram, prueba de oxidasa, evaluación de motilidad y observación de fluorescencia. La capacidad degradadora fue verificada cualitativamente en medio mineral mínimo suplementado con aceite residual como única fuente de carbono.

La cepa nativa seleccionada y la cepa de referencia *Pseudomonas putida* CECT B-14878 fueron cultivadas en medio Luria-Bertani y ajustadas a una concentración aproximada de 10^8 UFC mL⁻¹ mediante medición de densidad óptica a 600 nm.

El ensayo de biorremediación se realizó en microcosmos de suelo, utilizando 500 g de suelo por unidad experimental. El suelo fue contaminado artificialmente con aceite residual automotriz al 2% p/p ($\approx 20\,000$ mg kg⁻¹ de TPH) y su humedad ajustada al 65% de la capacidad de campo. Se establecieron tres tratamientos con tres réplicas independientes (n = 3): T1, suelo inoculado con *Pseudomonas putida*; T2, suelo inoculado con la cepa nativa; y T3, control abiótico sin inoculación bacteriana, previamente esterilizado, con el fin de discriminar la degradación biológica de procesos abióticos.

La inoculación se realizó aplicando un volumen equivalente al 10% (v/p) del suelo, alcanzando una concentración inicial aproximada de 10^7 UFC g⁻¹. Los microcosmos fueron incubados a 25 ± 1 °C durante 30 días, manteniendo condiciones aerobias mediante mezclado periódico y controlando la humedad dentro del rango de 60–70% de la capacidad de campo.

Las evaluaciones se realizaron en los días 0, 7, 14, 21 y 30. La variable dependiente fue la degradación de TPH, determinada mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) y expresada como porcentaje de remoción respecto a la concentración inicial, calculado a partir de la relación entre las concentraciones iniciales y finales de cada réplica.



Adicionalmente, se evaluó el crecimiento bacteriano mediante recuento en placa, expresado en UFC g⁻¹, así como parámetros fisicoquímicos como el pH y la humedad. Se establecieron tres tratamientos (T1, T2 y T3), cada uno con tres réplicas independientes, para un total de nueve microcosmos experimentales. Sobre estas mismas unidades se realizaron evaluaciones sucesivas durante el periodo de incubación.

Los datos fueron analizados estadísticamente para evaluar los efectos del tratamiento y del tiempo de incubación sobre la degradación de TPH. Previamente, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Cuando se detectaron diferencias significativas, se aplicó la prueba post hoc de Tukey, con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Asimismo, se empleó la correlación de Spearman para evaluar la asociación entre el crecimiento bacteriano y el porcentaje de degradación de TPH.

RESULTADOS

La caracterización inicial del suelo mostró un pH ligeramente alcalino (7.18 ± 0.12), humedad gravimétrica de $11.8 \pm 0.7\%$, materia orgánica de $4.3 \pm 0.3\%$, textura franco arenosa y una concentración inicial de TPH de $20\,068 \pm 210$ mg kg⁻¹. Estas condiciones fueron homogéneas entre las unidades experimentales al inicio del ensayo.

La concentración de TPH disminuyó progresivamente en los tratamientos biológicos durante los 30 días de incubación, con una reducción más pronunciada en la cepa nativa de *Pseudomonas* sp. (T2) que en *Pseudomonas putida* CECT B-14878 (T1), mientras que el control abiótico (T3) presentó una variación mínima. Esta tendencia se muestra en la Figura 1. Al día 30, T2 alcanzó $7\,478.67 \pm 165.54$ mg kg⁻¹, T1 $10\,867.00 \pm 144.17$ mg kg⁻¹ y T3 $18\,994.33 \pm 128.52$ mg kg⁻¹.

El porcentaje de degradación confirmó el mayor desempeño de la cepa nativa en todos los tiempos evaluados. A los 7 días, T2 ya mostraba una degradación de $20.21 \pm 0.74\%$, superior a T1 ($14.20 \pm 0.17\%$) y T3 ($1.71 \pm 0.01\%$). Al final del ensayo, los valores fueron $62.76 \pm 0.60\%$ para T2, $45.82 \pm 0.12\%$ para T1 y $7.23 \pm 0.16\%$ para T3 (Tabla 1).

El crecimiento bacteriano aumentó progresivamente hasta el día 21 y luego disminuyó ligeramente al día 30 en ambos tratamientos biológicos. La cepa nativa presentó mayores recuentos en todos los

tiempos, alcanzando 38.50×10^8 UFC g^{-1} al día 21, frente a 27.95×10^8 UFC g^{-1} en T1. El control abiótico no presentó crecimiento detectable. Esta dinámica se resume en la Figura 2.

El pH disminuyó de manera progresiva en los tratamientos inoculados, con una acidificación más marcada en T2. Entre el día 0 y el día 30, T1 pasó de 7.20 a 6.68 y T2 de 7.20 a 6.48, mientras que el control abiótico permaneció prácticamente estable (7.21 a 7.10). Esta variación acompañó el periodo de mayor crecimiento bacteriano y degradación del contaminante.

El análisis estadístico mostró efectos significativos del tratamiento, del tiempo de incubación y de la interacción tratamiento \times tiempo sobre el porcentaje de degradación de TPH ($p < 0.001$ en todos los casos). La prueba post hoc de Tukey mostró diferencias significativas entre los tratamientos al día 30, siendo T2 superior a T1 y T3, y T1 superior a T3. Asimismo, se observó una correlación positiva fuerte entre el crecimiento bacteriano y el porcentaje de degradación de TPH en los tratamientos biológicos ($r_s = 0.900$; $p = 0.037$).

DISCUSIÓN

La cepa nativa de *Pseudomonas* sp. (T2) mostró una mayor eficiencia en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) que *Pseudomonas putida* CECT B-14878 (T1) a lo largo de todo el ensayo, con una diferencia de aproximadamente 17 puntos porcentuales al día 30 (62.76% frente a 45.82%), estadísticamente significativa ($p < 0.001$). Estos valores se encuentran dentro de los rangos reportados en estudios de biorremediación en microcosmos, donde la degradación por bacterias especializadas puede superar el 60% bajo condiciones controladas (Varjani & Upasani, 2017). Asimismo, son coherentes con investigaciones que demuestran que bacterias aisladas de ambientes contaminados alcanzan mayor eficiencia degradativa que cepas de referencia, precisamente por su historial de exposición a los contaminantes del sitio (Xu et al., 2018).

Esta ventaja de la cepa nativa puede explicarse por los procesos de adaptación que ocurren en comunidades microbianas autóctonas sometidas a presiones selectivas continuas. Dicha exposición prolongada favorece el desarrollo de mecanismos metabólicos específicos, como una mayor eficiencia enzimática y una regulación optimizada de las rutas catabólicas involucradas en la degradación de hidrocarburos, que les confieren ventajas competitivas frente a microorganismos no adaptados al entorno (Tyagi et al., 2011).



En contraste, aunque *P. putida* es ampliamente reconocida por su versatilidad metabólica y sus sistemas enzimáticos bien caracterizados para la degradación de compuestos orgánicos complejos (Nikel & de Lorenzo, 2018), su desempeño puede verse comprometido al ser introducida en condiciones ambientales ajenas a su nicho original, donde debe competir con la microbiota residente y adaptarse a una composición específica del contaminante.

Desde el punto de vista bioquímico, la degradación de hidrocarburos por el género *Pseudomonas* está mediada por monooxigenasas y dioxigenasas que catalizan la oxidación inicial de estos compuestos hidrofóbicos, convirtiéndolos en intermediarios más polares susceptibles de ingresar a las rutas centrales del metabolismo microbiano (Ghosal et al., 2016). La eficiencia de este proceso depende, entre otros factores, de la biodisponibilidad del contaminante en la matriz del suelo. En este sentido, se ha reportado que la producción de biosurfactantes por parte de bacterias degradadoras incrementa la solubilidad aparente de los hidrocarburos, facilitando su acceso a las células microbianas y potenciando su mineralización (Mulligan, 2005). Es probable que la cepa nativa presente una mayor capacidad para sintetizar estos compuestos o una mayor afinidad por los sustratos presentes en el suelo evaluado, lo que contribuiría a explicar su mayor rendimiento degradativo en comparación con T1.

El bajo porcentaje de remoción registrado en el control abiótico (7.23%) permite descartar que procesos fisicoquímicos como la volatilización o la adsorción tengan una contribución relevante en la eliminación de los contaminantes bajo las condiciones del ensayo, y confirma que la actividad biológica es el mecanismo predominante. Este hallazgo es consistente con lo señalado por Megharaj et al. (2011), quienes destacan la biodegradación microbiana como la principal vía de remoción de contaminantes orgánicos en suelos impactados. En conjunto, estos resultados respaldan el enfoque de bioaumentación con microorganismos autóctonos, ampliamente recomendado por su mayor adaptabilidad y eficiencia en procesos de remediación ambiental (Adams et al., 2015; Bento et al., 2005).

La dinámica del crecimiento bacteriano aportó evidencia adicional sobre los mecanismos que subyacen a la degradación observada. En ambos tratamientos biológicos se registró un incremento progresivo de la biomasa hasta el día 21, seguido de una ligera disminución hacia el día 30, patrón que coincide con la dinámica típica de los sistemas de biodegradación.



Durante la fase de crecimiento exponencial, la disponibilidad de hidrocarburos fácilmente metabolizables actúa como sustrato energético que impulsa la proliferación bacteriana; conforme estos sustratos se agotan y se acumulan metabolitos intermedios de menor biodegradabilidad, la actividad microbiana tiende a estabilizarse y declinar (Das & Chandran, 2011). Este comportamiento indica que la degradación no fue homogénea a lo largo del tiempo, sino que estuvo condicionada por la accesibilidad progresiva de las distintas fracciones de hidrocarburos presentes en el suelo.

La correlación positiva y significativa entre el crecimiento bacteriano y el porcentaje de degradación de TPH ($r_s = 0.900$; $p < 0.05$) confirma que la proliferación microbiana y la remoción del contaminante son procesos estrechamente vinculados. En condiciones aerobias, las bacterias del género *Pseudomonas* utilizan los hidrocarburos como fuente de carbono y energía, de modo que su crecimiento está directamente condicionado por la disponibilidad del sustrato y, a su vez, retroalimenta positivamente el proceso degradativo (Ghosal et al., 2016; Xu et al., 2018). Este acoplamiento entre biomasa y degradación es uno de los principios fundamentales de la biorremediación microbiológica y sustenta la lógica de la bioaumentación como estrategia de intervención.

La mayor densidad celular alcanzada por la cepa nativa en todos los tiempos evaluados sugiere que esta podría poseer una mayor capacidad de aprovechamiento del sustrato. Esta diferencia podría estar relacionada con mecanismos fisiológicos de tolerancia a compuestos tóxicos, como la modificación de la composición lipídica de la membrana celular y la expresión de sistemas de eflujo, que favorecerían el mantenimiento de la integridad funcional en presencia de concentraciones elevadas de hidrocarburos (Tyagi et al., 2011), así como con una regulación génica potencialmente más eficiente de las rutas degradativas en respuesta a las condiciones específicas del sitio contaminado (Xu et al., 2018). Sin embargo, dado que estos mecanismos no fueron evaluados directamente en el presente estudio, su implicación constituye una hipótesis interpretativa que requiere verificación experimental.

La variación del pH registrada durante el ensayo constituye un indicador indirecto de la intensidad del proceso biodegradativo. La disminución progresiva observada en los tratamientos biológicos, más pronunciada en T2 que en T1, y prácticamente ausente en el control abiótico, es atribuible a la producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular como subproductos de la oxidación incompleta de los hidrocarburos durante las rutas catabólicas microbianas (Abbasian et al., 2015).



El hecho de que la acidificación fuera más intensa en la cepa nativa es coherente con su mayor tasa de degradación, ya que una actividad metabólica más elevada implica una generación proporcional de estos intermediarios ácidos. Esta relación entre acidificación y actividad degradativa ha sido documentada en sistemas similares y refuerza la interpretación de que T2 sostuvo un metabolismo más activo a lo largo del ensayo.

A pesar de la disminución del pH, los valores registrados en ambos tratamientos se mantuvieron dentro de un rango compatible con la actividad de las bacterias hidrocarbonoclastas, cuya eficiencia enzimática óptima se sitúa en condiciones próximas a la neutralidad, aunque con capacidad de tolerar variaciones moderadas sin comprometer significativamente su rendimiento degradativo (Leahy & Colwell, 1990; Das & Chandran, 2011). Esto sugiere que la caída del pH no actuó como factor limitante durante el período evaluado, lo que permitió que el proceso de biodegradación continuara de forma sostenida hasta el día 30. No obstante, en experimentos de mayor duración o con concentraciones iniciales de contaminante más elevadas, una acidificación más pronunciada podría eventualmente inhibir la actividad microbiana, aspecto que merece consideración en el diseño de intervenciones a mayor escala. Más allá del pH, la eficiencia de la biorremediación estuvo condicionada por el mantenimiento de condiciones operacionales adecuadas, particularmente la aireación y la humedad del suelo. El mezclado periódico de los microcosmos garantizó el suministro continuo de oxígeno como aceptor final de electrones en el metabolismo de las *Pseudomonas* aeróbicas, favoreciendo la actividad de las monooxigenasas y dioxigenasas responsables de la oxidación inicial de los hidrocarburos (Xu et al., 2018). La interrupción o reducción de este suministro habría comprometido las rutas oxidativas y, con ello, la eficiencia degradativa observada. Por su parte, el control de la humedad entre el 60 y el 70% de la capacidad de campo facilitó la difusión de nutrientes, contaminantes y oxígeno en la matriz del suelo, condición que se ha señalado como esencial para sostener la actividad microbiana en procesos de biorremediación, dado que tanto la sequía como la saturación hídrica pueden limitar severamente la biodegradación de hidrocarburos (Vidali, 2001). En conjunto, estas condiciones operacionales contribuyeron a que los niveles de remoción alcanzados fueran representativos del potencial real de cada cepa, sin interferencias derivadas de limitaciones ambientales evitables.



La mayor eficiencia de la cepa nativa frente a *P. putida* refuerza el valor de la bioaumentación adaptativa, enfoque en el que se emplean microorganismos autóctonos previamente seleccionados por las condiciones del sitio contaminado para optimizar la degradación. Estudios anteriores han documentado que estas cepas presentan ventajas competitivas en términos de supervivencia, colonización y actividad metabólica respecto a cepas introducidas, derivadas de procesos de adaptación genética y fisiológica que les permiten tolerar concentraciones elevadas de contaminantes y utilizar compuestos complejos como fuente de energía (Margesin & Schinner, 2001; Bento et al., 2005). En el entorno evaluado, talleres mecánicos con exposición crónica a aceites residuales automotrices, la implementación de sistemas de biorremediación in situ basados en cepas nativas constituiría una alternativa viable, sostenible y de bajo costo para la recuperación del suelo y la reducción del riesgo de contaminación de aguas subterráneas y exposición humana a compuestos tóxicos.

Complementariamente, desde una perspectiva biotecnológica, las cepas nativas podrían representar una fuente potencial de enzimas y biosurfactantes de interés aplicado. De confirmarse su producción mediante estudios específicos, estos compuestos podrían mejorar la biodisponibilidad de los hidrocarburos durante el proceso de remediación y optimizar la formulación de inóculos para su aplicación en campo, incrementando la eficiencia del tratamiento en suelos con alta heterogeneidad o baja permeabilidad (Pacwa-Płociniczak et al., 2011). Este potencial biotecnológico abre líneas de investigación orientadas a la caracterización de sus productos metabólicos, cuya verificación fortalecería el sustento científico para su uso en biorremediación a mayor escala.

Sin embargo, la eficiencia observada en condiciones de laboratorio no puede extrapolarse directamente a escenarios de campo, donde la heterogeneidad del suelo, la competencia con la microbiota residente y las fluctuaciones ambientales introducen complejidades que los microcosmos no logran reproducir en su totalidad (Tyagi et al., 2011). La transferencia de estas tecnologías hacia condiciones reales requiere una fase de validación a escala piloto que permita ajustar los parámetros operacionales y evaluar la estabilidad de las cepas frente a perturbaciones ambientales. Futuras investigaciones deberían, por tanto, orientarse a evaluar el desempeño de estas cepas en condiciones in situ, así como a explorar estrategias combinadas de bioaumentación y bioestimulación que potencien la eficiencia del proceso y reduzcan los tiempos de remediación en aplicaciones a escala de campo.



ILUSTRACIONES, TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Concentración de hidrocarburos totales de petróleo (TPH, mg kg⁻¹) en función del tiempo de incubación para los tratamientos T1, T2 y T3.

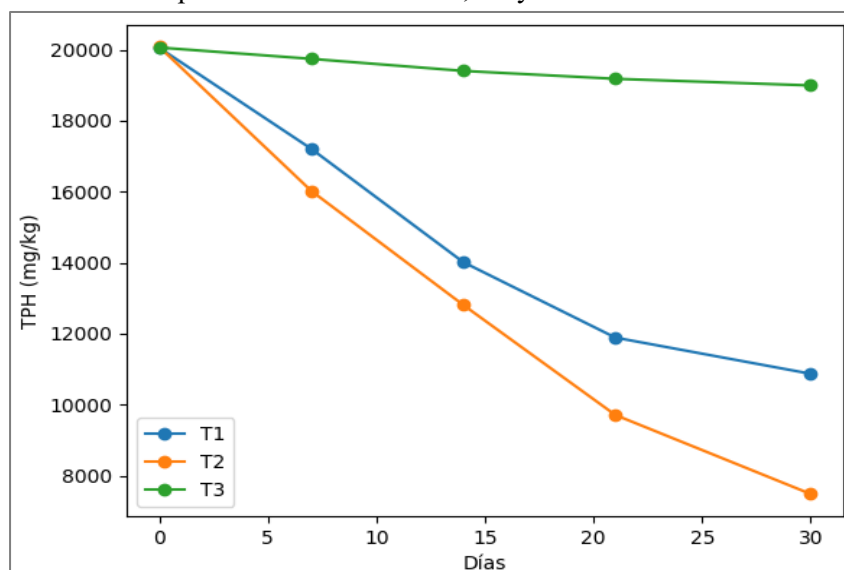


Tabla 1. Degradación de TPH (%) durante el ensayo

Día	T1 P. putida	T2 Cepa nativa	T3 Control abiótico
0	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
7	14.20 ± 0.17	20.21 ± 0.74	1.71 ± 0.01
14	30.13 ± 0.08	36.22 ± 0.68	3.52 ± 0.02
21	40.73 ± 0.16	51.66 ± 0.62	5.23 ± 0.09
30	45.82 ± 0.12	62.76 ± 0.60	7.23 ± 0.16

Figura 2. Crecimiento bacteriano ($\times 10^8$ UFC g⁻¹ de suelo) en función del tiempo para los tratamientos T1 y T2.

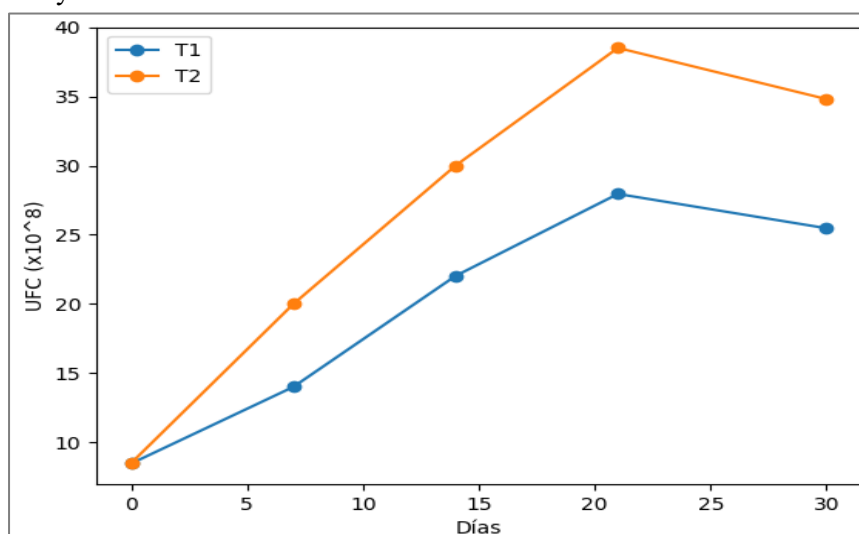
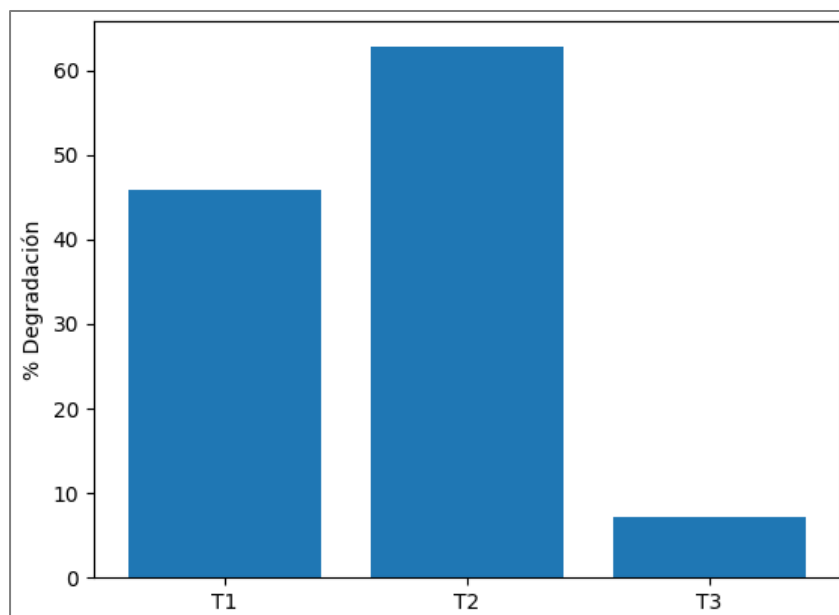


Tabla 2. Análisis estadístico del efecto del tratamiento y del tiempo sobre el porcentaje de degradación de TPH

Fuente de variación	gl	p
Tratamiento	2	< 0.001
Tiempo	4	< 0.001
Tratamiento × tiempo	8	< 0.001

Figura 3. Comparación del porcentaje de degradación de TPH al día 30 entre tratamientos.



CONCLUSIÓN

La evidencia obtenida permite sostener que la adaptación ecológica de los microorganismos al entorno contaminado constituye un factor determinante en la eficiencia de la biorremediación, con mayor peso que la versatilidad metabólica intrínseca de las cepas de referencia. La superioridad degradativa de la cepa nativa de *Pseudomonas* sp. frente a *P. putida* CECT B-14878, sustentada en una diferencia de 16.94 puntos porcentuales de remoción de TPH al día 30 y confirmada estadísticamente mediante el análisis del efecto del tratamiento y del tiempo, así como por la prueba de Tukey ($p < 0.001$), no es un resultado aislado, sino la expresión de procesos de selección natural que optimizan la capacidad catabólica de los microorganismos en respuesta a la presión ambiental ejercida por el contaminante.

Este principio respalda la incorporación sistemática de cepas autóctonas en el diseño de estrategias de bioaumentación, particularmente en contextos urbanos donde la composición del contaminante y las condiciones edáficas presentan alta especificidad.

Asimismo, la correlación positiva y significativa entre el crecimiento bacteriano y la degradación de TPH ($r_s = 0.900$; $p < 0.05$) confirma que la actividad metabólica microbiana es el principal mecanismo de remoción en este tipo de sistemas, mientras que la contribución de los procesos abióticos resulta marginal. Este hallazgo tiene implicancias directas para la práctica de la remediación: la viabilidad y densidad del inóculo son variables críticas que deben ser monitorizadas y optimizadas en cualquier intervención basada en bioaumentación.

No obstante, quedan interrogantes que constituyen una agenda pendiente para futuros estudios. En primer lugar, se desconoce si la eficiencia de la cepa nativa se mantiene bajo condiciones in situ, donde la heterogeneidad del suelo, la competencia microbiana y las variaciones estacionales introducen variables que los microcosmos de laboratorio no reproducen fielmente. En segundo lugar, la identidad genética y el perfil enzimático de la cepa nativa no fueron caracterizados en profundidad, por lo que resulta necesario determinar qué genes catabólicos específicos sustentan su mayor eficiencia, información que permitiría comprender mejor el mecanismo subyacente y diseñar inóculos más robustos. Finalmente, sería valioso explorar si la combinación de bioaumentación con estrategias de bioestimulación puede acortar los tiempos de remediación y ampliar el espectro de fracciones de hidrocarburos degradadas, aspectos que representan oportunidades concretas para investigadores que deseen continuar y ampliar esta línea de trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abbasian, F., Lockington, R., Mallavarapu, M., & Naidu, R. (2015). A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176(3), 670–699. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1603-5>
- Adams, G. O., Tawari-Fufeyin, P., & Ehinomen, I. (2015). Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: A review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 3(1), 28–39.



- Bento, F. M., Camargo, F. A. O., Okeke, B. C., & Frankenberger, W. T. (2005). Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresource Technology*, 96(9), 1049–1055. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.09.008>
- Das, N., & Chandran, P. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. *Biotechnology Research International*, 2011, 941810. <https://doi.org/10.4061/2011/941810>
- Ghosal, D., Ghosh, S., Dutta, T. K., & Ahn, Y. (2016). Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1369. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01369>
- Jacob, E. L., Mohan, A. P., & Joseph, A. V. (2022). Bioremediation of petroleum-polluted soil using biosurfactant producing bacteria, *Pseudomonas* sp. *Journal of Scientific Research*, 66(1), 224–231. <https://doi.org/10.37398/JSR.2022.660124>
- Ławniczak, Ł., Woźniak-Karczewska, M., Loibner, A. P., Heipieper, H. J., & Chrzanowski, Ł. (2020). Microbial degradation of hydrocarbons—Basic principles for bioremediation: A review. *Molecules*, 25(4), 856. <https://doi.org/10.3390/molecules25040856>
- Leahy, J. G., & Colwell, R. R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological Reviews*, 54(3), 305–315. <https://doi.org/10.1128/mr.54.3.305-315.1990>
- Margesin, R., & Schinner, F. (2001). Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(5–6), 650–663. <https://doi.org/10.1007/s002530100701>
- Megharaj, M., Ramakrishnan, B., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N., & Naidu, R. (2011). Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective. *Environment International*, 37(8), 1362–1375. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.06.003>
- Mulligan, C. N. (2005). Environmental applications for biosurfactants. *Environmental Pollution*, 133(2), 183–198. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.06.009>



- Nikel, P. I., & de Lorenzo, V. (2018). *Pseudomonas putida* as a functional chassis for industrial biocatalysis. *Metabolic Engineering*, 50, 142–155. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2018.05.005>
- Pacwa-Płociniczak, M., Płaza, G. A., Piotrowska-Seget, Z., & Cameotra, S. S. (2011). Environmental applications of biosurfactants: Recent advances. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(1), 633–654. <https://doi.org/10.3390/ijms12010633>
- Rehman, R., Ali, M. I., Ali, N., Badshah, M., Iqbal, M., Jamal, A., & Huang, Z. (2021). Crude oil biodegradation potential of biosurfactant-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Meyerozyma* sp. *Journal of Hazardous Materials*, 418, 126276. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126276>
- Rodríguez-Uribe, M. L., Peña-Cabriales, J. J., Rivera-Cruz, M. C., & Délano-Frier, J. P. (2021). Native bacteria isolated from weathered petroleum oil-contaminated soils in Tabasco, Mexico, accelerate the degradation of petroleum hydrocarbons in saline soil microcosms. *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101781. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101781>
- Truskewycz, A., Gundry, T. D., Khudur, L. S., et al. (2019). Petroleum hydrocarbon contamination in terrestrial ecosystems—Fate and microbial responses. *Molecules*, 24(18), 3400. <https://doi.org/10.3390/molecules24183400>
- Tyagi, M., da Fonseca, M. M. R., & de Carvalho, C. C. C. R. (2011). Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes. *Biodegradation*, 22, 231–241. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9394-4>
- Varjani, S. J., & Upasani, V. N. (2017). A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 120, 71–83. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006>
- Vidali, M. (2001). Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry*, 73(7), 1163–1172. <https://doi.org/10.1351/pac200173071163>



Xu, X., Liu, W., Tian, S., Wang, W., Qi, Q., Jiang, P., Gao, X., Li, F., Li, H., & Yu, H. (2018). Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions: A perspective analysis. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2885. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02885>

