

Estudio de un Tensoactivo Sintético en Biorremediación de Agua de Mar y su Toxicidad con Bioensayos en Semillas de Lechuga y *Artemia salina* Study of a Synthetic Surfactant in Sea Water Bioremediation and its Toxicity With Bioassays on Lettuce Seeds and *Artemia salina*

Jorge Gracida-Rodríguez¹ , Araceli Jiménez-Pérez²  y Arturo Abreu-Corona^{3†} 

¹ Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Cerro de las Campanas s/n, Col. Las Campanas. 76010 Querétaro, Queretaro, México; (J.G.R.).

² Biotecnología, Universidad Politécnica de Pachuca. Ctra.Pachuca-Cd. Sahagún km 20, Ex-Hacienda de Santa Bárbara. 43830 Zempoala, Hidalgo, México; (A.J.P.).

³ Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Ciencias Naturales. Av. Vasco de Quiroga 4871, Colonia Santa Fe Cuajimalpa. 05300 Cuajimalpa de Morelos, CDMX, México; (A.A.C.).

† Autor para correspondencia: a.abreu@dcniuamc.com

RESUMEN

La contaminación por petróleo y sus derivados representa un grave problema ambiental, que requiere de soluciones efectivas, como la biorremediación, una tecnología ampliamente estudiada y aplicada. Este proceso emplea microorganismos para eliminar, transformar o reducir los contaminantes y su impacto ambiental. Sin embargo, enfrenta desafíos como baja biodisponibilidad de los compuestos contaminantes. En este estudio se evaluó la biorremediación de agua de mar sintética contaminada con hidrocarburos totales de petróleo (HTP), utilizando las bacterias *Wautersia eutropha* y *Pseudomonas aeruginosa* junto con el tensoactivo aniónico sintético 5-(3,4,5-trishexiloxi)enciloxi isoftalato de sodio (AS-5) a una concentración de 200 mg L⁻¹. Los resultados mostraron una degradación del 85.3% con *P. aeruginosa*, 78.5% con *W. eutropha* y 85.9% con ambas cepas combinadas. En los bioensayos del AS-5, la concentración letal media (CL₅₀) fue de 586.33 mg L⁻¹ para *Artemia salina* y de 1100 mg L⁻¹ para *Lactuca sativa* L. Además, se calculó el índice integral de fitotoxicidad (IIF) en semillas de lechuga a concentraciones de 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de AS-5, obteniendo valores de 11.6, 29.3 y 38.1% respectivamente, en donde el parámetro más afectado fue la elongación del hipocótilo.

Palabras clave: bioaumentación, bioindicadores, hidrocarburos, tensoactivo aniónico.

SUMMARY

Oil pollution and its derivatives represent a serious environmental problem that requires effective remediation strategies such as bioremediation, a technology that has been widely studied and applied. This process employs microorganisms to degrade, transform, or reduce pollutants and their environmental impact. However, it faces challenges such as the low bioavailability of contaminant compounds. In this study, the bioremediation of synthetic seawater contaminated with total petroleum hydrocarbons (TPH) was evaluated using the bacteria *Wautersia eutropha* and *Pseudomonas aeruginosa* in combination with the synthetic anionic surfactant 5-(3,4,5-trishexyloxy)benzyloxy disodium isophthalate (AS-5) at a concentration of 200 mg L⁻¹. The results showed TPH degradation rates of 85.3% with *P. aeruginosa*, 78.5% with *W. eutropha*, and 85.9% with both strains combined. In the AS-5 bioassays, the median lethal concentration (LC₅₀) was 586.33 mg L⁻¹ for *Artemia salina* and 1100 mg L⁻¹ for *Lactuca sativa* L. Furthermore, the integral phytotoxicity index (IPI) was determined in lettuce seeds at concentrations of 50, 100, and 200 mg L⁻¹ of AS-5, yielding values of 11.6, 29.0, and 38.1%, respectively. The most affected parameter was hypocotyl elongation.

Index words: bioaugmentation, bioindicators, hydrocarbons, anionic surfactant.



Cita recomendada:

Gracida-Rodríguez, J., Jiménez-Pérez, A., & Abreu-Corona, A. (2025). Estudio de un Tensoactivo Sintético en Biorremediación de Agua de Mar y su Toxicidad con Bioensayos en Semillas de Lechuga y *Artemia salina*. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-8. e2170. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2170>

Recibido: 28 de noviembre de 2024.
Aceptado: 3 de febrero de 2025.
Artículo. Volumen 43.
Octubre de 2025.

Editor de Sección:
Dra. Dámaris Leopoldina Ojeda-Barrios

Editor Técnico:
Dr. David Cristóbal Acevedo



Copyright: © 2025 by the authors.
Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY NC ND) License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INTRODUCCIÓN

La biorremediación de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) es una tecnología atractiva y de bajo costo en comparación con los procesos fisicoquímicos o los térmicos. Este método utiliza microorganismos para eliminar o reducir los HTP de ambientes contaminados (Wu, Yeh, Lu, Lin y Chang, 2008; Bento, Camargo, Okeke y Frankenberger, 2005; Abena, Li, Shah y Zhong, 2019; Bidja-Abena, Sodbaatar, Damdinsuren, Choidash y Zhong, 2019). Entre los microorganismos involucrados se incluyen levaduras, hongos y bacterias. La base de la biorremediación radica en el potencial intrínseco de las poblaciones microbianas para utilizar estos contaminantes como fuente de carbono y energía, degradándolos o reduciéndolos en el ambiente. Los microorganismos ideales son aquellos con la capacidad de reproducirse mientras poseen una maquinaria enzimática eficiente para mineralizar compuestos tóxicos (Hassanshahian, Emtiazi y Cappello, 2012; Abena *et al.*, 2019; Bidja-Abena *et al.*, 2019; Sayed, Baloo y Sharma, 2021).

La bioaumentación es una técnica que consiste en la introducción de microorganismos no autóctonos o nativos cultivados en biorreactores (Lizardi-Jiménez, Leal, Ordaz y Reyna, 2015) con capacidades degradativas comprobadas. Este enfoque puede involucrar el uso de cepas individuales o consorcios microbianos. Algunos de los microorganismos expuestos a hidrocarburos generan y liberan biotensoactivos para evitar efectos adversos y producen enzimas que les permiten transformar los HTP (Adebusoye, Ilori, Amund, Teniola y Olatope, 2007; Patowary, Patowary, Kalita y Deka, 2018). La efectividad de degradación de HTP de cepas individuales o consorcios ha sido reportada por diversos autores (Sayed *et al.*, 2021). Por ejemplo, Huang *et al.* (2013) aislaron *Acinetobacter beijerinckii* 302 PWB-OH1 de un suelo contaminado con petróleo y demostraron que esta cepa fue capaz de degradar hasta 79.3% de diésel en agua de mar artificial contaminada en un periodo de 7 días. De manera similar Safdari, Kariminia, Ghobadi y Fletcher (2017) aislaron varias cepas de un sitio contaminado cerca de una refinería. Entre ellas *Bacillus subtilis* y *P. aeruginosa* lograron una remediación del 75 y 87% respectivamente, en agua de mar contaminada con 2% de diésel. Así mismo, Díaz-Borrego, Marín, Alburgue, Carrasquero y Morales (2018) reportaron la aplicación de un consorcio compuesto por *P. pertucinogena*, *P. syringae* y *Sphingomonas paucimobilis*, además de un cultivo unialgal de *Chlorella* spp para la biorremediación de agua contaminadas con gasóleo (diésel) al 1%, alcanzando una degradación de 77.3% de los HTP.

Algunos autores han propuesto, al menos dos mecanismos de adsorción de contaminantes por parte de los microorganismos. El primero es la absorción por contacto interfacial, que ocurre a través de formas libres como gotas macroscópicas. El segundo mecanismo es la absorción de formas emulsionadas, que involucra gotitas microscópicas (Hua y Wang, 2014; Denis, Pérez, Lizardi-Jiménez y Dutta, 2019). Este último mecanismo destaca por la relevancia de los tensoactivos, tanto químicos como biológicos, ya que contribuyen significativamente a incrementar la biodisponibilidad de los contaminantes y, en consecuencia, a mejorar los procesos de biorremediación (Asquith, Geary, Nolan y Evans, 2012; Patowary *et al.*, 2018; Abena *et al.*, 2019). Existen numerosos estudios que documentan la efectividad de los tensoactivos en la remediación. Sin embargo, se ha reportado que algunos de estos compuestos, particularmente los sintéticos, pueden inhibir el crecimiento bacteriano, lo que disminuye la eficiencia del proceso de remediación (Patowary *et al.*, 2018; da Rocha *et al.*, 2019). En este contexto, *P. aeruginosa* ampliamente reconocida como una cepa degradadora de hidrocarburos y una productora natural de ramnolípidos, que son biotensoactivos de gran efectividad (Jiménez, Medina y Gracida, 2010; Guo-liang, Yue-ting, Xin-ping y Qin, 2005; Torres-Rodríguez *et al.*, 2025).

Con base en lo anteriormente descrito, los objetivos de este trabajo fueron emplear el tensoactivo aniónico 5-(3,4,5-trishexiloxi)enciloxi isoftalato de disodio, identificado como AS.5 (Figura 1), reportado por Gracida, Ortega, Torres, Romero y Abreu (2017) en un proceso de bioaumentación utilizando las cepas *W. eutropha*, *P. aeruginosa* y su combinación; así como evaluar la toxicidad del tensoactivo mediante bioensayos con los modelos biológicos *A. salina* y *L. sativa* L, determinando la concentración letal media (CL₅₀), y el índice integral de fitotoxicidad (IIF) para *L. sativa* L.

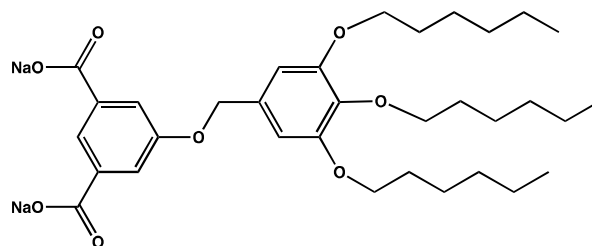


Figura 1. Estructura química del tensoactivo aniónico AS-5.
Figure 1. Chemical structure of the anionic surfactant AS-5.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los reactivos empleados fueron de la marca sigma-aldrich, excepto el tensoactivo AS-5.

Microorganismos. Se utilizó la cepa de *P. aeruginosa* ATCC 9027 (desarrollado por la Organización de Desarrollo de Estándares, Colección Americana de Cultivos Tipo, ATCC por sus siglas en inglés), se mantuvo a 4 °C en agar nutritivo durante todo el experimento, cultivándose semanalmente en caldo nutritivo (medio líquido no selectivo que contiene peptona, gelatina y extracto de carne) y se reactivó antes de cada ensayo experimental. Por su parte, la cepa bacteriana *W. eutropha* ATCC 17699 (sinónimos: *Cupravidus necator*, *Ralstonia eutropha*, *Alcaligenes eutrophus*), se mantuvo en medio líquido modificado Luria-Bertani (LB). En todos los casos, los componentes del medio, incluida la fuente de carbono se esterilizaron por separado y se mezclaron asépticamente antes de la inoculación. El preinóculo de *P. aeruginosa* se preparó transfiriendo 1 mL de caldo nutritivo con las células activas a 100 mL de caldo nutritivo estéril. En el caso de *W. eutropha*, las células cultivadas en placas con medio LB se transfirieron a un preinóculo en medio Luria Bertani (MLB, 100 mL) y se incubaron con agitación de 150 rpm y una temperatura de 30 grados centígrados.

Medios de cultivo. Para la experimentación se trabajó con los siguientes medios de cultivo, Medio Luria Bertani (MLB), cuya composición fue (g L⁻¹): Extracto de levadura (0.5), triptona (1.0), NaCl (1.0) y fructosa (1.0); Medio salino, donde la composición fue (g L⁻¹): MgSO₄·7H₂O (7.0), KCl (17.5), NaCl (17.5), CaCl₂ (0.875), en (mg L⁻¹) FeSO₄·7H₂O (8.70), ZnSO₄·7H₂O (26.20), MnSO₄·7H₂O (26.20), H₃BO₃ (5.20), CuSO₄·5H₂O (2.64), NaMoO₄·2H₂O (1.70), CoCl₂·6H₂O (2.64) y H₂O destilada. En el MS se adicionaron H₃PO₄ y NaNO₃ para mantener una relación C/N/P de 16:1.6:0.16. Se emplearon matraces Erlenmeyer con muescas de 250 mL que contenían 50 mL del medio salino. La fuente de carbono de este medio consistió en crudo Maya, clasificado como un crudo pesado, con una densidad de 1.0 a 0.92 g cm⁻³. El pH del medio de cultivo fue ajustado antes de esterilizar con NaOH 0.5 M y HCl 0.5 M, se utilizó un potenciómetro (Conductronic PH 120, México) para ajustar el valor de pH a 7 (±0.02). La esterilización del medio de cultivo se realizó en autoclave (15 min, 121 °C). Los preinóculos se agitaron en una incubadora orbital refrigerada (New Brunswick, E24).

Biorremediación. En matraces Erlenmeyer de 250 mL se adicionaron 60 mL de medio salino, 2 mL de tensoactivo AS-5 a 200 mg L⁻¹ y se esterilizó. Posteriormente se adicionó crudo Maya al medio (16 600 mg L⁻¹) y 6 mL de inóculo de *P. aeruginosa* y *W. eutropha*, se adicionaron cuando las cepas se encontraban en su fase exponencial de crecimiento en el preinóculo a 30 grados centígrados.

Extracción de HTP y análisis gravimétrico. La extracción de HTP residual se realizó a diferentes intervalos de tiempo (5, 10, 15, 20 y 25 días) para cada tratamiento. Se seleccionaron tres matraces de manera aleatoria, equivalentes a tres repeticiones, para cada intervalo de tiempo. La extracción líquido-líquido se realizó empleando n-hexano (Behera, Nayak, Biswas, Meikap y Sen, 2021). La extracción de HTP por este método provee fracciones de hidrocarburos de C₅ a C₅₀. El porcentaje de HTP degradados se determinó de acuerdo con el método APHA 5520 B (Rice, Baird y Eaton, 2012), empleando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ HTP biodegradados} = \frac{(\text{HTP inicial} - \text{HTP final})}{\text{HTP inicial}} \times 100 \quad (1)$$

Ensayo de toxicidad aguda con *Artemia salina*. Se realizaron las pruebas de toxicidad aguda para determinar de la CL₅₀ del tensoactivo AS-5 utilizando *A. salina* como organismo modelo. Para ello, se procedió primero con la eclosión de los nauplios en cajas petri con 10 mL de solución salina preparada con 32.5 g de sal de mar en 100 mL de agua. Las cajas se incubaron a 28 °C durante 24 h. Una vez completada la eclosión se tomaron 100 µL de solución con 20 a 30 nauplios, de aproximadamente 24 h de edad y se transfirieron a pozos que contenían 100 µL de solución de AS-5 a concentraciones de 25, 50, 100 y 200 mg L⁻¹ en triplicado. Como control se utilizó agua de mar estéril. El tiempo de exposición fue de 24 h, tras el cual se realizó el recuento de individuos muertos (aquellos incapaces de moverse durante diez segundos consecutivos). Con estos datos se determinó el porcentaje de mortalidad para cada concentración. El cálculo de la CL₅₀ se realizó mediante el método de análisis Probit (EPA, 2002a, EPA, 2002b). Para los cálculos se utilizó el software Probit Analysis Program, versión 1.5 desarrollado por la misma agencia. Los resultados se representaron gráficamente como curvas de regresión Probit empírico frente al logaritmo de la concentración con sus respectivos límites de confianza.

Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. Se emplearon cajas Petri para la germinación de semillas. En cada caja se colocó un disco de papel filtro, previamente marcado con la disolución de AS-5, así como la fecha, hora de inicio y de término del bioensayo. El papel filtro fue saturado con 4 mL de la

disolución de AS-5 a diferentes concentraciones. Las semillas se distribuyeron sobre el papel dejando suficiente espacio para permitir la elongación adecuada de las raíces. Posteriormente las cajas se sellaron y colocaron dentro de bolsas plásticas para evitar la pérdida de humedad durante el ensayo. Estas se incubaron a 22 °C por 120 horas. Las variables medidas fueron la inhibición de la germinación, la inhibición en la elongación de la radícula e hipocótilo (medidas en papel milimetrado bajo lupa estereoscópica). Para determinar la CL_{50} se utilizó el método de análisis Probit, que fue utilizado en el ensayo de *A. salina*.

Determinación del índice integral de fitotoxicidad (IIF). La determinación del índice integral de fitotoxicidad (IIF) se llevó a cabo de acuerdo con la ecuación modificada propuesta por Pernía *et al.* (2018) misma que se muestra a continuación:

$$IIF = 100 - \left(\frac{SGM}{SGC} \left(\frac{LRM}{LRC} + \frac{LHM}{LHC} \right) \right) 100 \quad (2)$$

Donde *SGM* representa el promedio del número de semillas germinadas en la muestra; *SGC*, el promedio del número de semillas germinadas en el control (blanco); *LRM*, el promedio de la longitud de la radícula en la muestra; *LRC*, el promedio de la longitud de la radícula en el control; *LHM*, el promedio de la longitud del hipocótilo en la muestra; y *LHC*, el promedio de la longitud del hipocótilo en el control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biorremediación de HTP por *P. aeruginosa* y *W. eutropha*. El proceso de bioremediación se evaluó durante 5, 10, 15, 20 y 25 días a 30 °C. Los resultados mostraron que *W. eutropha* logró una degradación máxima del $78.7 \pm 3.13\%$ en 10 días, representando un incremento del 26.5% en comparación con el control sin AS-5. Mientras que *P. aeruginosa* logró una degradación máxima fue de $85.3 \pm 2.26\%$ en tan solo cinco días, lo que correspondió a un incremento del 27.62% respecto al control. Cuando se emplearon las cepas como consorcio se alcanzó una degradación máxima de $85.9 \pm 0.21\%$ en 15 días. La Figura 2 muestra el comportamiento de los tres procesos de degradación. Estos resultados evidencian que el uso del tensoactivo AS-5 aumentó significativamente la biodisponibilidad de los contaminantes, favoreciendo la eficiencia del proceso de remediación. Estudios previos respaldan estos resultados, Dhote, Kumar y Juwarkar (2018) reportaron una degradación del 78% de petróleo en 20 días utilizando un consorcio de cuatro cepas bacterianas, constituido por *Bacillus sp* y *Pseudomonas sp*. Huang *et al.* (2013) describieron una cepa identificada como *Acinetobacter beijerinckii* 302 PWB-OH1 capaz de degradar el 79.3% de diésel en un periodo similar, mientras que, Safdari *et al.* (2017) alcanzaron entre el 75 y 87% de remediación de HTP con *P. aeruginosa* y *Bacillus subtilis* respectivamente. Así mismo, Díaz-Borrego *et al.*, (2018) informaron una degradación de 77.3% de HTP mediante un consorcio bacteriano constituido por *P. pertucinogena*, *P. syringae* y *Sphingomonas paucimobilis*, además de un cultivo unialgal de *Chlorella spp*. En comparación, los resultados del presente estudio son congruentes con estos antecedentes, mostrando una eficiencia similar o superior en el tiempo requerido para alcanzar altos niveles de biorremediación. Esto subraya el potencial del uso de tensoactivos como el AS-5 para mejorar la biodisponibilidad de contaminantes y maximizar la eficiencia de los procesos de biorremediación.

Ensayo de toxicidad aguda con *Artemia salina*. La eclosión de *A. salina* comenzó a partir de las 16 h. Los organismos fueron expuestos a diferentes concentraciones de AS-5. En el grupo control, la viabilidad fue del 100% y no se observaron alteraciones en el comportamiento de los organismos de prueba. En las concentraciones de 100 y 200 mg L⁻¹ de AS-5, algunas larvas presentaron dificultades motrices tras 24 horas de exposición, mientras que en concentraciones más bajas no se detectaron efectos adversos. Los resultados obtenidos en el ensayo se muestran en el Cuadro 1. La concentración media letal (CL_{50}) del AS-5 determinada fue de $586.33 \text{ mg L}^{-1} \pm 60.29$, se realizó mediante el análisis Probit, con un intervalo de confianza del 95%, los resultados obtenidos se graficaron como curvas de regresión lineal Probit empírico contra logaritmo de la concentración de AS-5, con sus respectivos límites de confianza y un factor de correlación de 0.9982. El valor de la CL_{50} obtenido es aproximadamente diez veces mayor que la concentración micelar crítica reportada por Gracida *et al.* (2017) de AS-5 (56.5 mg L⁻¹), esto indica que puede utilizarse en concentraciones mayores a su concentración micelar crítica sin presentar problemas de toxicidad.

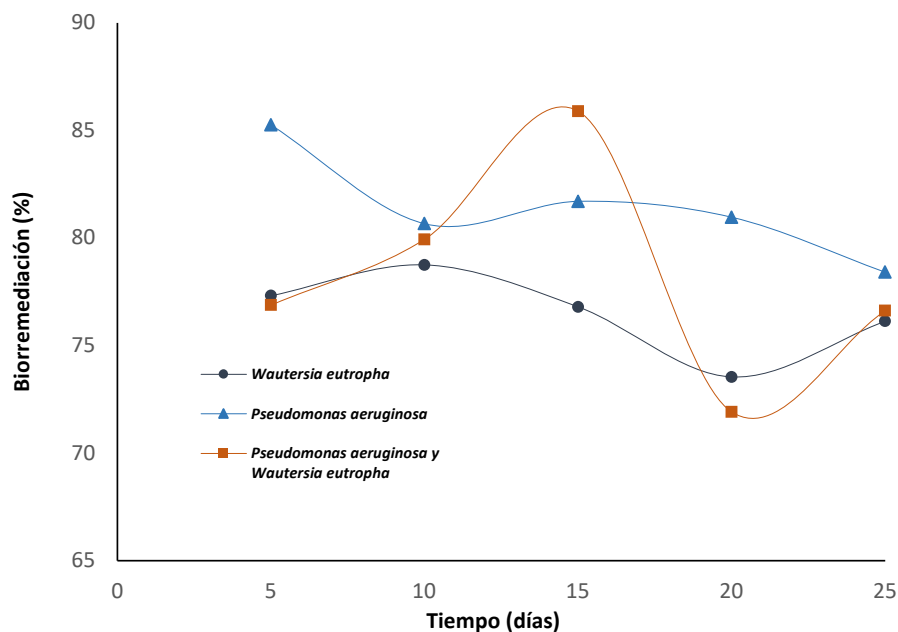


Figura 2. Proceso de remediación con *W. eutropha* y *P. aeruginosa* con AS-5 a 200 mg L⁻¹.
Figure 2. Remediation process with *W. eutropha* and *P. aeruginosa* with AS-5 at 200 mg L⁻¹.

De acuerdo con el programa de las Naciones Unidas para el Medio ambiente, la CL₅₀ para ensayos agudos en invertebrados acuáticos reportada en la literatura es de 0.07-59.90 mg L⁻¹ (Castañedo *et al.*, 2019). Valores de CL₅₀ frente a *A. salina* para compuestos de interés. Así Huamán *et al.* (2003) reportaron una CL₅₀ de 320 mg L⁻¹ para el extracto metanólico de *Cinnamomun zeylanicum* (canela). Jaramillo, Olivero, y Muñoz (2007) documentaron una CL₅₀ de entre 83.86 y 119.71 mg L⁻¹ para *Croton malambo*. Peña y Gutiérrez (2017) informaron una CL₅₀ de 2.54 mg L⁻¹ para el aceite esencial de *Minthostachys mollis*, resultó tóxico para *A. salina*. Saetama, Vera, Vanegas, Cruzat y Brazales (2018) reportaron una CL₅₀ de 17.38 mg L⁻¹ para ibuprofeno. Barrios, Toledo, Abalos, Acosta y Sánchez (2022) analizaron ensayos toxicológicos a los ramnolípidos producidos y extraídos de una cepa de *Pseudomonas* sp. Y3-B1A, la CL₅₀ reportada fue de 163.40 mg L⁻¹. El tensoactivo AS-5 del presente trabajo mostró una CL₅₀ significativamente mayor que estos compuestos, lo que indica que se requiere de una mayor concentración para producir el mismo efecto. Por lo tanto, se concluye que el AS-5 no es tóxico frente *A. salina* en las condiciones evaluadas.

Ensayo de toxicidad aguda con semillas de *Lactuca sativa* L. Los porcentajes de germinación de las semillas expuestas a concentraciones de 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de AS-5 se presentan en la Figura 3. En el control, la germinación fue mayor del 90%. A 50 mg L⁻¹ de AS-5 la inhibición fue del 0%, mientras que a 100 mg L⁻¹

Cuadro 1. Porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* a diferentes concentraciones del tensoactivo AS-5.
Table 1. Percentage of mortality of *Artemia salina* at different concentrations of the AS-5 surfactant.

[AS-5]	Promedio de mortalidad	Desviación estándar	Coefficiente de variación
mg L ⁻¹	%	s	%
Control	0.0	0.0	0.0
25	10.0	1.73	8.2
50	11.6	1.15	5.7
100	13.0	2.64	13.2
200	17.8	1.0	5.0

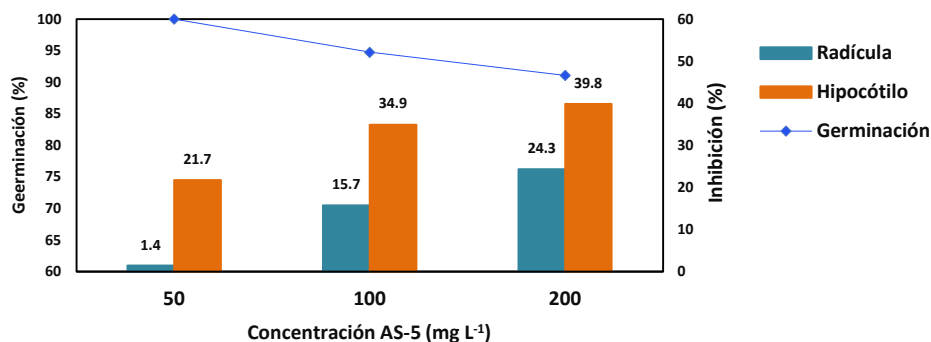


Figura 3. Germinación de semillas de *Lactuca sativa* L e inhibición de hipocótilo y radícula.
Figure 3. Germination of *Lactuca sativa* L seeds and inhibition of hypocotyl and radicle.

fue de 5.27%, y a 200 mg L⁻¹ fue de 8.95%. La CL₅₀ estimada por interpolación mediante el análisis Probit fue de 1100 mg L⁻¹ ± 60.29 (intervalo de confianza del 95%, graficados como curvas de regresión lineal Probit empírico contra logaritmo de la concentración de AS-5 y un factor de correlación de 0.9987), valor que equivale a casi veinte veces la concentración micelar crítica del AS-5. En cuanto a la elongación de la radícula, las inhibiciones fueron de 1.4, 15.7 y 24.3%, a concentraciones de 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de AS-5 respectivamente. Los porcentajes de inhibición en la elongación del hipocótilo fueron 21.7% (50 mg L⁻¹), 34.0% (100 mg L⁻¹) y 39.8% (200 mg L⁻¹), siendo en todos los casos menores del 40%. El bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*L. sativa* L) es una prueba estática de toxicidad aguda, útil para evaluar efectos durante la germinación y los primeros días de desarrollo. Durante esta etapa crítica, numerosos procesos fisiológicos, por ejemplo: el crecimiento radicular, la germinación, la fotosíntesis inicial, entre algunos otros, pueden ser alterados por sustancias tóxicas, afectando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta (Castañedo *et al.*, 2019).

Diversos trabajos han empleado *L. sativa* L como bioindicador. Por ejemplo, Saetama *et al.* (2018), al evaluar ibuprofeno no pudieron determinar la CL₅₀ ya que la germinación superó el 90% en todas las concentraciones probadas. Además, observaron un efecto de estimulación en el crecimiento de la radícula y el hipocótilo. Por otro lado, Vazquez, Condomiña y Aronzon (2020) evaluaron el tensoactivo lauril éter sulfato de sodio (SLES), obteniendo una CL₅₀ de 3.33 mg L⁻¹. Este compuesto provocó inhibición completa en la germinación y reducciones significativas en la elongación de la radícula, alcanzando inhibiciones del 82% y 86% a concentraciones de 1 mg L⁻¹ y 2 mg L⁻¹, respectivamente. A una concentración de 10 mg L⁻¹ la inhibición fue completa.

Respecto a los valores del índice integral de fitotoxicidad de las diferentes concentraciones de AS-5 evaluadas, fueron los siguientes: 11.6%, a 50 mg L⁻¹, 29.3% a 100 mg L⁻¹ y 38.13% a 200 mg L⁻¹. El índice integral de fitotoxicidad considera la germinación y el efecto del compuesto de prueba sobre la longitud del hipocótilo y la radícula. Este índice tiene la particularidad de proporcionar valores que oscilan entre -100 y 100, por lo tanto, se pueden interpretar en términos de porcentaje. Valores positivos presentan efectos de inhibición en la germinación y en el crecimiento del hipocótilo y la radícula, mientras que, valores negativos reflejan estimulación en el crecimiento. En este estudio, el parámetro más afectado por el AS-5 fue la elongación del hipocótilo. A pesar de las inhibiciones observadas en el hipocótilo y la radícula, los resultados indican que el tensoactivo AS-5 no fue tóxico para las semillas de *L. sativa* L bajo las condiciones evaluadas.

CONCLUSIONES

La biorremediación de agua de mar artificial contaminada con crudo Maya empleando *W. eutropha* y *P. aeruginosa* y las cepas combinadas en conjunto con el tensoactivo AS-5 (200 mg L⁻¹), lograron porcentajes de degradación (78.75-85.89%) competitivos, comparados con los reportados en la literatura. El AS-5 mostró un incremento importante en el proceso estudiado, alrededor del 20%. La determinación de la CL₅₀ frente a *A. salina* y *L. sativa* L fueron de 10 y casi 20 veces el valor de la concentración micelar crítica del AS-5, respectivamente, mientras que, el análisis del índice integral de fitotoxicidad indicó cierta inhibición en el crecimiento del hipocótilo. Debido a que el tensoactivo AS-5 no resultó tóxico frente a los bioindicadores empleados en este estudio, es posible continuar con su aplicación en procesos de biorremediación.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

Los conjuntos de datos utilizados o analizados durante el estudio actual están disponibles del autor correspondiente a solicitud razonable.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses en competencia.

FINANCIACIÓN.

No aplicable.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Conceptualización, Metodología e Investigación: J. G. R. y A. A. C., Análisis de datos, escritura, preparación del borrador original: A. J. P. Escritura, revisión y edición: J. G. R. y A. A. C. Administración del proyecto: A.A.C.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONACyT.

LITERATURA CITADA

- Abena, M. T. B., Li, T., Shah, M. N., & Zhong, W. (2019). Biodegradation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in highly contaminated soils by natural attenuation and bioaugmentation. *Chemosphere*, 234, 864-874. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.111>
- Adebusoye, S. A., Ilori, M. O., Amund, O. O., Teniola, O. D., & Olatope, S. O. (2007). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons in a polluted tropical stream. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 1149-1159. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9345-3>
- Asquith, E. A., Geary, P. M., Nolan, A. L., & Evans, C. A. (2012). Comparative bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by biostimulation, bioaugmentation and surfactant addition. *Journal of Environmental Science and Engineering A*, 1, 637-650.
- Barrios, S. M. Y., Toledo, L. H. F., Abalos, R. A., Acosta, D. S., & Sánchez, L. M. I. (2022). Aplicación de ramnolípidos de *Pseudomonas* sp. Y3-B1A en la biodegradación de hidrocarburos a diferentes escalas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 38, 1-15. <https://doi.org/10.20937/rica.54389>
- Behera, I. D., Nayak, M., Biswas, S., Meikap, B. C., & Sen, R. (2021). Enhanced biodegradation of total petroleum hydrocarbons by implementing a novel two-step bioaugmentation strategy using indigenous bacterial consortium. *Journal of Environmental Management*, 292, 112746. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112746>
- Bento, F. M., Camargo, F. A., 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>
- Bidja-Abena, M. T., Sodbaatar, N., Li, T., Damdinsuren, N., Choidash, B., & Zhong, W. (2019). Crude oil biodegradation by newly isolated bacterial strains and their consortium under soil microcosm experiment. *Applied biochemistry and biotechnology*, 189, 1223-1244. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03058-2>
- Castañedo, Z. A., Águila, E., Marrero, O., Meneses-Marcel, A., Sifontes, S., Seijo, M., & Santana, A. (2019). Bioensayo de toxicidad aguda en tres biomodelos utilizando compuestos de referencia. *Revista de Toxicología*, 36(2), 128-133.
- da Rocha, D. L., Servulo, E. F. C., Taketani, R. G., Videira, S. S., de Lima-Rizzo, A. C., & da Cunha, C. D. (2019). Application of surfactants and biosurfactants in the bioremediation of multi-contaminated soils: microcosms and bench scale bioreactor trials. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 6(11), 91-98. <https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.611.14>
- Denis, B., Pérez, O. A., Lizardi-Jiménez, M. A., & Dutta, A. (2019). Numerical evaluation of direct interfacial uptake by a microbial consortium in an airlift bioreactor. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 542-551. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.08.012>
- Dhote, M., Kumar, A., & Juwarkar, A. (2018). Petroleum contaminated oil sludge degradation by defined consortium: Influence of biosurfactant production. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 88, 517-523. <https://doi.org/10.1007/s40011-016-0778-z>

- Díaz-Borrego, L. C., Marín-Leal, J. C., Alburgue-Díaz, D. A., Carrasquero-Ferrer, S. J., & Morales-Avenida, E. D. (2018). Consorcio microbiano autóctono para el tratamiento de aguas contaminadas con gasoil del puerto de Isla de Toas (Venezuela). *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*, 28(2), 5-27. <https://doi.org/10.18359/rcin.2792>
- EPA (Environmental Protection Agency). (2002a). *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms* (4th ed.). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.
- EPA (Environmental Protection Agency). (2002b). *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms* (4th ed., EPA-821-R-02-013). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.
- Gracida, J., Ortega-Ortega, J., Torres B, L. G., Romero-Avila, M., & Abreu, A. (2017). Synthesis of Anionic Surfactant and Their Application in Washing of Oil-Contaminated Soil. *Journal of Surfactants and Detergents*, 20(2), 493-502. <https://doi.org/10.1007/s11743-017-1926-z>.
- Guo-liang, Z., Yue-ting, W. U., Xin-ping, Q., & Qin, M. (2005). Biodegradation of crude oil by *Pseudomonas aeruginosa* in the presence of rhamnolipids. *Journal of Zhejiang University Science B*, 6, 725-730.
- Hassanshahian, M., Emtiaz, G., & Cappello, S. (2012). Isolation and characterization of crude-oil-degrading bacteria from the Persian Gulf and the Caspian Sea. *Marine pollution bulletin*, 64(1), 7-12. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.11.006>
- Hua, F., & Wang, H. Q. (2014). Uptake and trans-membrane transport of petroleum hydrocarbons by microorganisms. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 28(2), 165-175. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.906136>
- Huamán, S., Hurtado, H., Kong, V., León, C., León, D., Lister, P., ... & Ibañez, L. (2003). Estudio toxicológico y teratogénico del extracto metanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (canela). *Horizonte Médico*, 3, 69-78.
- Huang, L., Xie, J., Lv, B. Y., Shi, X. F., Li, G. Q., Liang, F. L., & Lian, J. Y. (2013). Optimization of nutrient component for diesel oil degradation by *Acinetobacter beijerinckii* ZRS. *Marine Pollution Bulletin*, 76(1-2), 325-332. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.03.037>
- Jaramillo, B. E., Olivero, J. T., & Muñoz, K. (2007). Composición química volátil y toxicidad aguda (CL₅₀) frente a *Artemia salina* del aceite esencial del Croton malambo colectado en la costa norte colombiana. *Scientia et Technica*, 1(33), 299-302.
- Jiménez, D., Medina-Moreno, S. A., & Gracida-Rodríguez, J. N. (2010) Propiedades, aplicaciones y producción de biotensoactivos: una revisión. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(1), 65-84.
- Lizardi-Jiménez, M. A., Leal-Bautista, R. M., Ordaz, A., & Reyna-Velarde, R. (2015). Airlift bioreactors for hydrocarbon water pollution remediation in a tourism development pole. *Desalination and Water Treatment*, 54(1), 44-49. <https://doi.org/10.1080/19443994.2013.876670>
- Patowary, R., Patowary, K., Kalita, M. C., & Deka, S. (2018). Application of biosurfactant for enhancement of bioremediation process of crude oil contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 129, 50-60. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2018.01.004>
- Peña, D., & Gutiérrez, M. (2017). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas. *Revista Ciencia y Tecnología*, 13(3), 55-66.
- Pernía, B., Rojas-Tortolero, D., Sena, L., Sisto, A. D., Inojosa, Y., & Naranjo, L. (2018). Fitotoxicidad de HAP, crudos extra pesados y sus fracciones en *Lactuca sativa*: una interpretación integral utilizando un índice de toxicidad modificado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(1), 79-91. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.01.07>
- Rice, E. W., Baird, R. B., & Eaton, A. D. (Eds.). (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (22nd ed.). Washington, DC USA : American Public Health Association. ISBN-10: 0-87553-013-3
- Saetama, V., Vera, L., Vanegas, M. E., Cruzat, C., & Brazales, D. (2018). Evaluación toxicológica de soluciones acuosas de ibuprofeno mediante bioensayos con *Artemia salina*, *Allium schoenoprasum* L y *Lactuca sativa*. *Revista de Toxicología*, 35, 112-118.
- Safdari, M. S., Kariminia, H. R., Ghobadi N. Z., & Fletcher, T. H. (2017). Study potential of indigenous *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* in bioremediation of diesel-contaminated water. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(37), 1-7. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3220-5>
- Sayed, K., Baloo, L., & Sharma, N. K. (2021). Bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) by bioaugmentation and biostimulation in water with floating oil spill containment booms as bioreactor basin. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 1-26. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052226>
- Torres-Rodríguez, J. A., Cedeño-Moreira, A. V., Puente-Bosquez, D. K., Molina-Sanchez, G. A., Zapata-Sifuentes, G., & Ceiro-Catasú, W. G. (2025). Potencial de Microorganismos del suelo: Caracterización Morfológica, Molecular y Actividad Antifúngica. *Terra Latinoamericana*, 43, 1-19. <https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2008>
- Vazquez, F. J., Condomiña, C. B., & Aronzon, C. (2020). Contaminantes ambientales emergentes: Toxicidad del lauril eter sulfato de sodio y el salbutamol sobre larvas de *Rhinella arenarum* y semillas de *Lactuca sativa*. *Perspectivas: Revista Científica de la Universidad de Belgrano*, 3(1), 116-127.
- Wu, J. Y., Yeh, K. L., Lu, W. B., Lin, C. L., & Chang, J. S. (2008). Rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* EM1 isolated from oil-contaminated site. *Bioresource Technology*, 99(5), 1157-1164. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.02.026>