



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**CARACTERIZACIÓN GENÓMICA Y FUNCIONAL DE
BACTERIAS DEGRADADORAS DE GLIFOSATO Y AMPA CON
POTENCIAL EN BIORREMEDIACIÓN**

Por:

Alejandro Payán García

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA PARA PRODUCTOS AGRÍCOLAS EN
ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Alejandro Payán García la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias



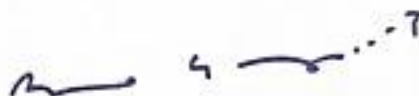
Dra. María Claudia Villicaña Torres
Directora de Tesis



Dra. Josefina León Félix
Integrante del comité de tesis



M.C. Pedro de Jesús Bastidas Bastidas
Integrante del comité de tesis



Dr. Bruno Gómez Gil Rodríguez Sala
Integrante del comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis "Caracterización Genómica y Funcional de Bacterias Degradadoras de Glifosato y AMPA con Potencial en Biorremediación" es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Alejandro Payán García, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.
Coordinación de Programas Académicos



Dra. Graciela Cajre Juvera
Directora General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (CONAHCYT) por la beca otorgada durante todo el posgrado, y por el apoyo hacia el proyecto, a través del cual se logró realizar el proceso experimental.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. (CIAD) por permitir el uso de sus instalaciones y la ejecución del proyecto de tesis titulado “Caracterización genómica y funcional de bacterias degradadoras de glifosato y AMPA con potencial en biorremediación”.

A CONAHCYT por el financiamiento otorgado para el proyecto 316020 “Aislamiento de bacterias degradadoras de glifosato y AMPA: alternativas biológicas para la biorremediación de suelos contaminados” y a CIAD por el proyecto Fondo Semilla “Diseño de un consorcio sintético bacteriano con capacidad degradadora de glifosato y AMPA con aplicación potencial en procesos de biorremediación” que apoyaron con recursos para llevar a cabo la fase experimental de esta tesis.

A la Dra. María Claudia Villicaña Torres, por aceptarme como su estudiante, apoyarme y guiarme en toda la investigación para desarrollar un proyecto de calidad, por su esfuerzo y dedicación y por ayudarme a crecer tanto como investigador y como persona.

A la Dra. Josefina León Félix por siempre estar disponible para las reuniones de comité, por permitirme utilizar las instalaciones del laboratorio y por sus consejos alrededor de la investigación.

Al M.C. Pedro Bastidas Bastidas por permitirme utilizar las instalaciones del laboratorio de plaguicidas, y enseñarme los fundamentos de la cromatografía, así mismo agradezco a Jorge y Claudia del mismo laboratorio por apoyarme y enseñarme las metodologías de cuantificación que realicé en esta investigación.

A todos los investigadores que fueron mis maestros en las asignaturas cursadas durante el posgrado, por compartir su experiencia y conocimiento con el objetivo de formarme académicamente.

A la Dra. Isabel Cruz Lachica y al M.C. Isidro Marquez Zequera del laboratorio de fitopatología por permitirme utilizar el equipo para cuantificación de ADN, así como la autoclave.

A la M.C. Rosabel Velez por su disposición para utilizar el espectrofotómetro para el ajuste de densidad óptica de mis muestras.

A mis compañeros de generación de maestría 2022-2024, Roxana Carrillo, Jesús Apodaca, Carlos

Lazcano y Alexandra Guzmán por siempre apoyarnos y relajarnos en las situaciones de estrés.

A mis compañeros del equipo de trabajo del laboratorio de Biología Molecular y Genómica Funcional (BIMOGEN), Lucía Rubí, Brandon Morales, Christian Grimaldi, Richecarde Lafrance, Karina Kao, María José Martínez y Eunice Pérez por compartir su conocimiento conmigo y brindarme su ayuda siempre que lo necesité.

A los estudiantes de verano Delfín, Ary Valenzuela, Vladimir Ibañez y Lucía Martínez por su entusiasmo y apoyo en la realización de experimentos de mi proyecto. A mi estudiante Valeria Puerta por apoyarme en todos mis experimentos de cinética de degradación y cuantificación de densidad óptica.

A mis padres por ser mi apoyo incondicional en este camino que he tomado hacia la investigación y por todo su esfuerzo para formarme como la persona que soy y seré en un futuro.

Y finalmente a mi novia Alexandra Guzmán, por siempre estar a mi lado cuando más lo he necesitado, por ser mi soporte y mi compañía, por consolarme en momentos de estrés y aconsejarme en momentos de duda, por compartir este camino tan enriquecedor y bonito conmigo y por ser mi felicidad de cada día.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mis padres Porfirio Payán y Judith García, que me han enseñado como ser una persona respetable, trabajadora, feliz y con muchas virtudes, por apoyarme en cumplir mis objetivos, por darme la educación necesaria para poder llegar a este punto, por cuidarme y criarme desde pequeño, les dedico cada uno de mis esfuerzos imbuidos en esta tesis, así como ustedes se esforzaron por mí. Los amo.

A mi novia Alexandra Guzmán por ser no solo mi compañera de maestría, sino también de vida, mi inspiración, mi guía y por ayudarme siempre, te amo con todo mi alma preciosa.

CONTENIDO

APROBACIÓN.....	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	6
CONTENIDO.....	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE CUADROS.....	10
RESUMEN.....	11
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. ANTECEDENTES	16
2.1. Agricultura en México.....	16
2.2. Factores Asociados a la Pérdida de Producción	17
2.3. Manejo Integrado de Plagas (MIP).....	19
2.3.1. Métodos Físicos	19
2.3.2. Métodos Biológicos	20
2.3.3. Control Químico	21
2.4. Plaguicidas más Utilizados en Sinaloa	22
2.4.1. Glifosato.....	24
2.4.1.1. Mecanismo de acción.....	25
2.4.1.2. Toxicidad e impacto en la salud y el medio ambiente	27
2.4.1.3. Vías de degradación del glifosato.	29
2.4.2. AMPA (Ácido aminometilfosfónico)	31
2.4.2.1. Impactos en la salud y el medio ambiente..	32
2.5. Biorremediación	33
2.5.1. Tipos de Biorremediación.....	34
2.5.2. Inoculantes Bacterianos para Biorremediación	35
2.5.2.1. Desarrollo de inoculantes conformados por consorcios.	37
2.5.3. Estudios en Bacterias Degradadoras de Glifosato y AMPA.....	39
2.5.4. Estudios de Bacterias Degradadoras de Glifosato en México	41
3. HIPÓTESIS	43
4. OBJETIVOS	44
4.1. Objetivo General.....	44
4.2. Objetivos Específicos	44
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
5.1. Obtención de Cepas y Condiciones de Cultivo	45

CONTENIDO (continuación)

5.2. Extracción de ADN Genómico.....	46
5.3. Secuenciación y Ensamble de los Genomas Bacterianos.....	47
5.4. Anotación de Genomas.....	48
5.5. Determinación de UFC/mL	50
5.6. Ensayo de Degradación de Glifosato en Cultivo <i>in vitro</i>	50
5.7. Ensayo de Degradación de AMPA en Cultivo <i>in vitro</i>	51
5.8. Ensayos de Degradación de Glifosato en un Modelo de Microcosmos de Suelo	52
5.9. Cuantificación de Glifosato y AMPA por UPLC-MS/MS.....	54
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
6.1. Ensamble de Genomas.....	56
6.2. Anotación de Genomas.....	59
6.2.1. Genes Asociados a la Degradación de Glifosato y AMPA	59
6.2.2. Genes de Virulencia y de Resistencia a Antibióticos	61
6.2.3. Genes de Degradación a Otros Plaguicidas y Propiedades Promotoras de Crecimiento en Plantas	63
6.3. Determinación de UFC/mL	65
6.4. Degradación de Glifosato en Cultivo <i>in vitro</i>	66
6.4.1 Degradación en Cepas Aisladas en Costa Rica (CR)	66
6.4.2 Degradación en Cepas Aisladas en Fundación Produce Sinaloa (FPS).....	69
6.5. Degradación de AMPA en Cultivo <i>in vitro</i>	72
6.6. Ensayo de Degradación de Glifosato en Microcosmos de Suelo	75
7. CONCLUSIONES.....	77
8. RECOMENDACIONES.....	78
9. BIBLIOGRAFÍA.....	79

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Gráfica del volumen de producción agrícola en México en el año 2023.....	17
2. Estructura química de la molécula del herbicida Glifosato.....	25
3. Mecanismo de acción del glifosato.....	26
4. Vías de degradación de glifosato en bacterias.....	31
5. Representación gráfica del cromosoma circular cerrado de las cepas.....	58
6. Representación gráfica de los plásmidos identificados en las cepas bacterianas.....	58
7. Cinética de crecimiento durante la degradación de glifosato.....	66
8. Determinación de la concentración residual de glifosato y AMPA, cepas CR.....	68
9. Cinética de crecimiento durante la degradación de glifosato, cepas FPS.....	70
10. Determinación de la concentración residual de A) glifosato, y B) AMPA, cepas FPS.....	72
11. Evaluación de la degradación de AMPA.....	74
12. Cinética de crecimiento durante la degradación de AMPA.....	74
13. Concentración de glifosato residual (mg/L) en microcosmos de suelo.....	75

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Ejemplos de depredadores y sus presas objetivo.	21
2. Genes relacionados a la degradación o tolerancia de glifosato y AMPA.	49
3. Genes codificantes de propiedades promotoras de crecimiento en plantas..	49
4. Diseño experimental de los tratamientos para el ensayo de microcosmos de suelo	53
5. Características genómicas y parámetros del ensamble de los genomas.....	57
6. Genes relacionados a degradación y tolerancia de glifosato o AMPA	61
7. Genes de resistencia a antibióticos presentes en las cepas.....	62
8. Resultados de la cuantificación de UFC/mL a una DO600 1.5.....	65

RESUMEN

La agricultura es una de las actividades primarias más importantes en México con una producción agrícola de aproximadamente 265.1 millones de toneladas con ganancias mayores a los 700 miles de millones de pesos. Esta actividad puede verse afectada por distintos factores bióticos, como las malezas que afectan los cultivos y que son controladas con el uso de herbicidas, como el glifosato. En este contexto, el uso desmedido de glifosato ha provocado diferentes problemáticas como es la aparición de especies de malezas resistentes, cambios en la microbiota del suelo, enfermedades crónico-degenerativas y diversos padecimientos en humanos y contaminación ambiental. Debido a esta creciente problemática, en la actualidad ha ganado importancia la búsqueda de estrategias para disminuir la presencia de estos agroquímicos en el suelo, entre ellas el uso de inoculantes bacterianos como una alternativa agroecológica que no generen contaminantes, sean sustentables y posean propiedades promotoras que le permitan un mejor desarrollo del cultivo. En este trabajo, se realizó la secuenciación y caracterización del genoma completo de cinco cepas aisladas en Sinaloa, así como la evaluación de su potencial de degradación de glifosato y AMPA *in vitro* y en un modelo de la técnica de microcosmos en suelo. En todos los genomas se encontró la presencia de genes reportados para la degradación de glifosato, específicamente, el gen *thiO* en la bacteria *P. megaterium* FA-05; los cistrones *phnD*, *phnP*, *phnAB* en *S. maltophilia* CRA-10; el cistrón *phnH* en *C. sakazakii* FA-08; los cistrones *phnCE₁E₂D* y *phnYX₂* en *P. putida*; y el operón completo *phn* en *P. dispersa* F-22. También se identificaron genes relacionados a síntesis de sideróforos en todas las cepas y genes del proceso de nitrificación solo en las cepas *P. putida* CRA-04, *S. maltophilia* CRA-10 y *C. sakazakii* FA-08. En los ensayos de degradación *in vitro* de glifosato o AMPA a una concentración inicial de 30 mg/L, se observó que solo las cepas *P. dispersa* F-22, *S. maltophilia* CRA-10 y el cultivo mixto CRA-04 y CRA-10, presentaron la capacidad de metabolizar al menos uno estos compuestos. La cepa *P. dispersa* F-22 presentó el mejor potencial degradador degradando glifosato y AMPA, en un 17% y 86.41% respectivamente en 6 días. La cepa *S. maltophilia* CRA-10 degradó el 77.66% de AMPA en 6 días. El consorcio CRA-04 y CRA-10 mostró una degradación del 17% de glifosato en las mismas condiciones. Los resultados del microcosmos fueron inconclusos debido a discrepancias en los controles.

Palabras Clave: Plaguicidas, Glifosato, AMPA, Biorremediación, Caracterización genómica, Inoculantes bacterianos.

ABSTRACT

Agriculture is one of the most important primary activities in Mexico with a crop production of approximately 265.1 million tons with profits greater than 700 billion pesos. This activity can be affected by different biotic factors, such as weeds that affect crops and are controlled with herbicides, such as glyphosate. In this context, the excessive use of glyphosate has caused different issues such as the emergence of glyphosate-resistant weeds species, changes in the soil microbiota, chronic-degenerative diseases and various ailments in humans, and environmental pollution. Due to this growing problem, currently, the research focused on strategies to reduce the presence of these agrochemicals in soils has gained importance, including the use of bacterial inoculants as an agroecological alternative that do not generate contaminants, is sustainable and offers plant growth promoting properties. In this work, we sequenced and characterized the complete genome of five strains isolated from Sinaloa, and we evaluated their glyphosate and AMPA degradation capabilities *in vitro* and in a model of the technique of microcosm in soil. All genomes harbored genes associated to glyphosate degradation pathways, specifically, the *thiO* gene in *Priestia megaterium* FA-05; the *phnD*, *phnP* and *phnAB* cistrons in *Stenotrophomonas maltophilia* CRA-10; the *phnH* cistron in *Cronobacter sakazakii* FA-08; the *phnCE1E2D* and *phnYX2* cistrons in *Pseudomonas putida* CRA-04; and the complete *phn* operon in *Panteoa dispersa* F-22. Genes related to siderophore synthesis were also identified in all strains, and nitrification genes were identified in *P. putida* CRA-04, *S. maltophilia* CRA-10 and *C. sakazakii* FA-08. The glyphosate and AMPA degradation assays *in vitro* revealed that only the strains *P. dispersa* F-22, *S. maltophilia* CRA-10 and the CRA-04 and CRA-10 consortium, reduced the concentration of at least one of these compounds, which were used at an initial concentration of 30 mg/L. The *P. dispersa* F-22 strain showed the highest degrader potential by removing glyphosate and AMPA at 17% and 86.41% in 6 days, respectively. *S. maltophilia* CRA-10 reduced at 77.66% of AMPA in 6 days. Moreover, the CRA-04/CRA-10 consortium showed a 17% of glyphosate degradation under the same conditions. The microcosm results were inconclusive due to discrepancies with the controls.

Keywords: Pesticides, Glyphosate, AMPA, Bioremediation, Genomic characterization, Bacterial inoculants

1. INTRODUCCIÓN

La producción agrícola es una de las más importantes en México, debido a su alta rentabilidad, demanda y productividad con ganancias anuales de aproximadamente 885 miles de millones de pesos. La agricultura generalmente se ve afectada por diversos factores bióticos, entre ellos las malezas, las cuales pueden mermar la producción agrícola hasta en un 40%. Por ello, el uso de herbicidas se ha convertido en una práctica común para el control eficiente de las malezas a un bajo costo económico. En este contexto, el glifosato se ha utilizado en los últimos años de manera intensiva para el control de malezas, llegando en 2014 hasta los 747 millones de kilogramos aplicados a nivel mundial, estimándose en la actualidad un aumento en la aplicación de este agroquímico (Benbrook, 2016). Diversos estudios han demostrado que este herbicida presenta altos niveles de residualidad, dando lugar a la contaminación del ambiente y de alimentos, lo cual se ha asociado al desarrollo de una variedad de enfermedades crónico-degenerativas en poblaciones con exposición directa o indirecta con este compuesto (Monge *et al.*, 2007; Shaw, 2017). La exposición directa principalmente ocurre en los campos agrícolas donde las personas encargadas de la aplicación del glifosato realizan este proceso sin el uso del equipo de protección personal adecuado, y además las malas prácticas en cuanto a la disposición final de los envases de plaguicidas pueden contribuir a su diseminación al ser desechados en las parcelas o en cuerpos de agua (Cruz-Hernández, 2003). Eso último contribuye en gran medida a la exposición indirecta de la población a través de la contaminación de los alimentos y agua. Por otro lado, el glifosato en el ambiente puede degradarse principalmente generando el metabolito ácido aminometilfosfónico (AMPA, por sus siglas en inglés), el cual se ha reportado también con una alta residualidad (Singh *et al.*, 2020), es tóxico y se ha asociado con enfermedades genéticas en humanos y cambios en la microbiota nativa de peces y moluscos (Hembach *et al.*, 2024; Leyva-Soto *et al.*, 2018).

Debido a esto, en la actualidad existe un creciente interés en la búsqueda de alternativas agroecológicas que contribuyan a la disminución de la concentración de glifosato en suelos agrícolas, siendo la biorremediación una de las estrategias más prometedoras, dado que se basa en el empleo de agentes biológicos como los microorganismos, hongos y plantas con capacidad para degradar o transformar compuestos tóxicos a moléculas menos tóxicas o inocuas (Darwin, 2020). Entre los microorganismos, las bacterias son uno de los grupos que presentan una amplia capacidad

para utilizar para su crecimiento, compuestos químicos tóxicos, como el glifosato o el AMPA, como fuentes de carbono, fósforo, nitrógeno, entre otros. Estas capacidades metabólicas son esenciales para el desarrollo de inoculantes bacterianos dirigidos hacia la biorremediación de suelos impactados con glifosato. Asimismo, otras características deseables en dichos inoculantes son la producción de biosurfactantes, la ausencia de genes relacionados a virulencia en cultivos de importancia económica, así como la presencia de propiedades promotoras de crecimiento en plantas, características que contribuirán a que el inoculante no solo degrade glifosato y AMPA, sino también que sea seguro para su aplicación y presente propiedades que favorezcan el desarrollo y crecimiento de las plantas, extendiendo las aplicaciones de los mismos (Glick, 2012; Martínez-Viveros *et al.*, 2010).

Estudios previos en el grupo de investigación, a partir de muestras de suelos con exposición a glifosato, lograron el aislamiento de 64 cepas bacterianas de dos municipios de Sinaloa, las cuales mostraron capacidad para crecer en medios suplementados con glifosato y AMPA. Las cepas se caracterizaron a nivel bioquímico y se identificaron mediante secuenciación del gen ARN ribosomal (ARNr) 16S. Ensayos preliminares, mostraron el potencial de las cepas para tolerar altos niveles de glifosato (Figueroa-Iriarte, 2023; Valdés-Machado, 2023; datos no publicados).

En este estudio, a partir de la colección de cepas obtenidos previamente, se seleccionaron para evaluar la degradación de glifosato y de AMPA de forma individual y en consorcio, las cepas *Pseudomonas putida* (CRA-04), *Priestia megaterium* (FA-05), *Cronobacter sakazakii* (FA-08), *Stenotrophomonas maltophilia* (CRA-10) y *Pantoea dispersa* (F-22). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue caracterizar a nivel genómico y funcional el proceso de degradación de glifosato y AMPA en cepas bacterianas aisladas de suelo agrícola con potencial biorremediador. Los resultados obtenidos contribuirán a determinar si las cepas analizadas presentan las características deseadas para la formulación de un inoculante bacteriano y al mismo tiempo, si presentan sinergia o antagonismo durante el proceso de degradación de glifosato y AMPA.

2. ANTECEDENTES

2.1. Agricultura en México

La producción de alimentos es en la actualidad el mayor desafío para alcanzar la sustentabilidad. En nuestro país se practican dos tipos de agricultura: la tradicional o extensiva, en la cual el productor depende en gran parte de las lluvias, condiciones climatológicas y mano de obra no salariada y la segunda, la agricultura comercial o intensiva que se relaciona con el consumo de energía, contaminación, erosión de suelos y el uso de mano de obra asalariada, representando esta última el 31% del total de superficie sembrada en 2023 (SIAP, 2023). La producción total agropecuaria para 2023 fue de 273.3 millones de toneladas aproximadamente, que correspondieron al 91.1% del total de la producción agropecuaria y pesquera (Figura 1), ocupando 24.6 millones de hectáreas para esta actividad. México se posiciona en el primer lugar en producción de hortalizas en América Latina (Statista Research Department, 2023) y en el doceavo lugar en la producción mundial en cultivos agrícolas con ganancias anuales de aproximadamente 885 miles de millones de pesos. Esta alta producción agrícola permite a México ocupar el noveno puesto en exportación mundial en el sector agroalimentario (SIAP, 2023).

En Sinaloa, esta actividad sobrepasó en el año 2023, los 12 millones de toneladas producidas con un valor de producción de 80 mil 187 millones de pesos. Este estado cuenta con más de un millón de hectáreas para siembra destinadas en un 53% para el cultivo de granos, 31.6% para hortalizas y el resto para leguminosas, frutas y otros cultivos, posicionando a Sinaloa en el onceavo puesto a nivel nacional en producción anual y tercer puesto en valor de la producción agrícola (CODESIN, 2023). Estos datos implican que, con la alta producción agropecuaria, es muy importante buscar otras estrategias que en conjunto con los plaguicidas permitan mantener un manejo integrado de plagas sin afectar la eficiencia agrícola ni la salud de los suelos.

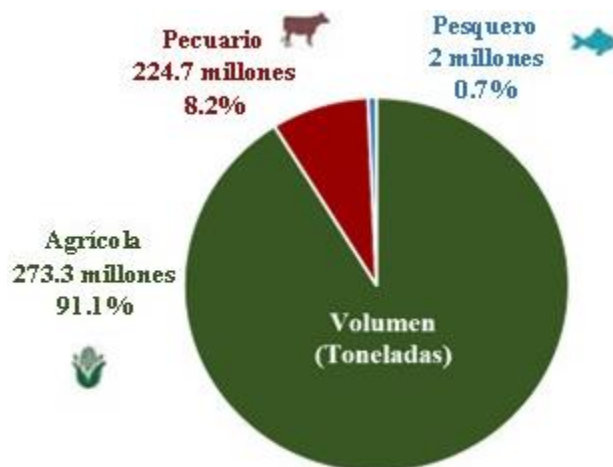


Figura 1. Gráfica del volumen de producción agrícola en México en el año 2022 (Adaptado de SIAP, 2023).

2.2. Factores Asociados a la Pérdida de Producción

Existen diversos factores que afectan negativamente la producción agrícola, los cuales se dividen en factores bióticos y abióticos, ya sea reduciendo la producción o generando pérdidas importantes en diversos cultivos (Echeverría, 2017). Los factores abióticos se refieren a aquellos factores inherentes al ambiente y que pueden afectar las propiedades fisicoquímicas del suelo, tales como la luz solar, la temperatura, la salinidad, la sequía, la deficiencia de nutrientes, entre otros (UNAM, 2017).

El exceso de salinidad en el suelo reduce la capacidad de la planta para adsorber agua reduciendo su crecimiento y desarrollo (Chaffai *et al.*, 2024). El déficit de agua en el suelo provoca la plasmólisis de las células vegetales desencadenando daños irreversibles en el tejido vegetal, no obstante, el exceso de esta reduce la disponibilidad de oxígeno en raíces afectando la adquisición de nutrientes (Agunbiade *et al.*, 2024). Las bajas concentraciones de minerales, materia orgánica y productos de descomposición también afectan la capacidad de la planta para retener agua y obtener nutrientes como nitrógeno, fósforo, magnesio, zinc, entre otros. En el caso de la temperatura, ya sea temperaturas excesivamente altas o bajas producen daños en los tejidos vegetales y disminuyen los procesos fisiológicos de las plantas. La presencia de estos factores abióticos influye en la acumulación de especies reactivas de oxígeno (EROs), las cuales afectan la síntesis de pigmentos,

la fotosíntesis y disminuyen la expresión génica de acuaporinas y proteínas de choque térmico (Moulick *et al.*, 2024).

Los factores bióticos corresponden a los elementos vivos o entidades biológicas que se pueden encontrar interaccionando con los cultivos, como son la presencia de insectos, roedores, bacterias, parásitos, hongos, virus y malezas (Soto, 2022). Estos factores afectan considerablemente la producción agrícola llegando a pérdidas de hasta en un 40% (AGROASEMEX, 2019), siendo el manejo de estos organismos un reto importante en la agricultura.

Los factores bióticos pueden afectar a los cultivos de diferentes formas. Pueden ocasionar el desarrollo de enfermedades como la pudrición de raíces provocada por hongos fitopatógenos como *Gaeumannomyces tritici* que provoca la enfermedad denominada pietín en gramíneas, principalmente en trigo (Palma-Guerrero *et al.*, 2021); el cancro bacteriano producido por las bacterias *Pseudomonas syringae* (La Porta *et al.*, 2023) y *Clavibacter michiganensis* (Sen *et al.*, 2015); y antracnosis provocada por hongos del género *Colletotrichum spp.* (Ciofini *et al.*, 2022) en diversas plantas. Otros organismos como los pulgones afectan el proceso de maduración de cultivos como la papa, tomate y chile, además de facilitar la infección por virus; así mismo otros insectos como los escarabajos y las conocidas moscas de la fruta producen daños físicos en las hojas, tallos o frutos (Agroasemex, 2019).

Las malezas o arvenses son plantas silvestres que compiten por la adquisición de nutrientes, luz y espacio, reduciendo el rendimiento y el crecimiento de los cultivos, siendo éstas uno de los factores que mayormente limitan la producción agrícola, además los arvenses pueden funcionar como hospederos de plagas y enfermedades, aumentando el riesgo de infestaciones y brotes (Little *et al.*, 2021). Se estima que mundialmente llegan a reducir la producción agrícola hasta en un 31.5%, siendo difícil su control debido a la generación de biotipos resistentes (Kubiak *et al.*, 2022). Entre las malezas más comunes que afectan cultivos de importancia económica, está el bleo o amaranto (*Amaranthus spp.*), el cebollín (*Cyperus rotundus*), la correhuela (*Convolvulus arvensis*), el pasto alegría (*Echinochloa crus-galli*) y el cenizo (*Chenopodium album*), estos arvenses afectan principalmente cultivos de gramíneas, tubérculos y hortalizas y se caracterizan por crecer en una variedad de condiciones climáticas, diferentes tipos de suelo y poseer una alta tasa de crecimiento (Radosevich *et al.*, 2007; Schonbeck, 2012; Bajwa *et al.*, 2015; Peerzada, 2017; VanVolkenburg *et al.*, 2020; Eslami y Ward, 2021).

2.3. Manejo Integrado de Plagas (MIP)

El manejo integrado de plagas (MIP) es una estrategia efectiva para el control de las plagas agrícolas, que busca armonizar la eficiencia en el combate de plagas sin depender únicamente de los plaguicidas, combinando diversas técnicas biológicas, físicas y agrícolas para mantener las plagas por debajo del umbral de daño ecológico (FAO, 2022). Esto reduce el uso de plaguicidas y promueve sistemas de producción agrícola sostenibles (Peralta *et al.*, 2021). El MIP se basa en principios fundamentales que buscan un enfoque más efectivo para controlar las plagas en la agricultura, como el enfoque ecosistémico que considera todo el sistema agrícola como un sistema interconectado, donde se busca prevenir o suprimir organismos nocivos que podrían generar problemas de plagas mediante el uso de especies antagonistas como depredadores, parásitos y competidores, así como la utilización de diversas prácticas agroecológicas. Otros de los principios fundamentales para el MIP son el análisis de causas de los brotes de plagas, el monitoreo constante, así como prevenir o reducir la acumulación de plagas, todo estos a través del uso de métodos físicos, biológicos o químicos, así como la adopción de diversas prácticas tales como la diversificación y rotación de los cultivos, cultivos intercalados, el manejo de arvenses, uso de variedades de cultivos resistentes, saneamiento de terrenos y semillas, el manejo del agua y el riego, y por supuesto la vigilancia del aumento o disminución de la plaga una vez aplicados estas alternativas (FAO, 2024).

2.3.1. Métodos Físicos

El control físico consiste en la utilización de algún agente como temperatura, humedad, insolación, fotoperiodismo y radiaciones electromagnéticas, en intensidades que sean letales para los insectos; sin embargo, también se pueden utilizar agentes puramente físicos como mallas, cercas o la eliminación manual (Cisneros, 1995). Esta última es considerada la medida de control más fácil e inmediata, especialmente en etapas tempranas de la infestación, puesto que existen síntomas o plagas que son visualmente detectables como los insectos, manchas o marchitamiento en las hojas y los arvenses, facilitando su rápida detección y eliminación. Este control se puede complementar

con otros métodos meramente físicos como las barreras o las trampas, que pueden ser de madera, plástico o malla, o también se pueden utilizar trampas de agua con feromonas que atraen a los insectos (JICA, 2010).

En el caso de propiedades fisicoquímicas, la temperatura es uno de los agentes más comúnmente usados ya que se sabe que las temperaturas mayores a 60°C son nocivas para la mayoría de los insectos y nemátodos, misma que inhiben la actividad de los virus (Carlins y Elliott, 2020). Por otro lado, los insectos reducen su actividad a temperaturas cercanas a los 20°C, sin embargo, este control puede beneficiar a otro tipo de plagas como algunos hongos fitopatógenos, tal es el caso de *Phytophthora infestans* que proliferan a temperaturas alrededor de los 20°C.

2.3.2. Métodos Biológicos

El control del tipo biológico es una estrategia altamente utilizada contra plagas importadas, aunque puede ser aplicada para plagas comunes, y se basa en el empleo de agentes biológicos que realizan una acción antagónica hacia la plaga de interés. Estos agentes pueden ser depredadores, parasitoides y patógenos (Jiménez *et al.*, 2009).

Los depredadores son insectos u otros animales que se alimentan de las plagas succionándoles la sangre o devorándolos, existen diversos depredadores naturales como las arañas, avispas, catarinas, entre otros, que ayudan al control de ciertas plagas (Cuadro 1). Por otro lado, los parasitoides son insectos que viven a expensas de otro y devoran progresivamente a la plaga hasta causarle la muerte. Por último, los entomopatógenos son microorganismos tales como virus, bacterias, hongos y nemátodos que causan enfermedades entre las plagas. Este control es considerado de tipo natural ya que es constante y es el resultado de la evolución de los ecosistemas naturales, es decir, sin la intervención del ser humano (Quezada, 1985). Aunque este mecanismo sea autorregulable no excluye a los agentes biológicos de presentar ciertas características específicas como tener crecimiento rápido, alta capacidad de reproducción y supervivencia, diferentes niveles de dormancia y una alta versatilidad en el ambiente (Viera-Arroyo *et al.*, 2020), y como ejemplos de este tipo de microorganismos se encuentran los hongos del género *Beauveria* como la especie *B. bassiana*, los cuales segregan toxinas y otros compuestos que degradan el tegumento del insecto

hasta llegar al hemocele introduciéndose en el sistema circulatorio del insecto provocando su muerte (Pedrini, 2022). En esta categoría también existen bacterias como *Bacillus thuringiensis* que ejercen una acción similar a los hongos (Sharma *et al.*, 2020).

El uso de patógenos no se limita al control de insectos, también se ha reportado como alternativas para el control de malezas, existiendo alrededor de 18 productos elaborados a base de esporas de hongos, bacterias o virus que han sido autorizados para el control biológico y se comercializan como productos certificados, aunque su uso se limita a ciertos países como Canadá, EUA, Australia y Japón, debido a que es una tecnología emergente aún en proceso (Morin, 2020).

Cuadro 1. Ejemplos de depredadores y sus presas objetivo. Tomado de JICA (2010).

Depredadores	Presas principales
Ácaro predador	Ácaro herbívoro
Araña	Varios insectos
Avispa	Oruga
Chinche predador	Chinche herbívoro
Crisopa	Pulgón
Hormiga	Orugas
Mariquita	Pulgón
Mosca predadora (Larva)	Pulgón
Trips predador	Otros trips, ácaro

2.3.3. Control Químico

El control químico tiene como fundamento la represión o prevención de plagas mediante el uso de sustancias naturales o sintéticas que reciben el nombre genérico de plaguicidas. Sin embargo, dependiendo del tipo factor biótico para el que son efectivos, reciben nombres específicos como insecticidas, acaricidas, raticidas, nematocidas, fungicidas y herbicidas, donde éstos últimos se utilizan para el control de malezas (Falconí, 2013). Antes del surgimiento de los plaguicidas sintéticos, se utilizaban productos como aceites agrícolas, arsenato de plomo, jabón, sulfuro de hierro, nicotina y otros elementos inorgánicos como el cobre y el sulfuro. Sin embargo, debido a su ineficiencia para el control de las plagas se desarrollaron los primeros plaguicidas sintéticos, constituidos por diclorodifeniltricloroetileno (DDT) y organofosfato (malatión) (JICA, 2010).

Existen otros grupos de plaguicidas sintéticos que utilizan diferentes moléculas químicas como carbamatos, piretroides y piretrinas para el control de las plagas de todos los tipos, puesto que sus efectos son más rápidos que cualquiera otra forma de represión y al mismo tiempo son de fácil manejo (Cisneros, 1995).

Los mecanismos de acción de estos productos difieren según el tipo de plaguicida y su objetivo, por ejemplo, los insecticidas y acaricidas afectan interfiriendo en el sistema nervioso, alterando la función de enzimas metabólicas o modificando la membrana lipídica que rodea las fibras nerviosas (IRAC, 2024). Por otro lado, los bactericidas y fungicidas interfieren con procesos esenciales en las bacterias y hongos como la síntesis de proteínas, replicación del ADN, lisis de la membrana celular o actúan sobre proteínas motoras (FRAC, 2019; Certis Belchim, 2021). Asimismo, existen los herbicidas cuyo objetivo es el control o eliminación de arvenses por distintos mecanismos de inhibición tales como: inhibición del fotosistema II y desvío o secuestro de electrones del fotosistema I, inhibición de la síntesis de lípidos interfiriendo en la formación de glicerolípidos y fosfolípidos, inhibición de la síntesis de aminoácidos, inhibición de la síntesis de pigmentos fotosintéticos como la clorofila o los carotenoides y la inhibición de la división celular, estos mecanismos dependen del herbicida y de la maleza objetivo y permiten un control de la plaga en diversos puntos biológicos (Alvaro, 2008). Desde su implementación en la agricultura, se ha observado un incremento en la productividad agrícola. Sin embargo, el uso excesivo de este tipo de compuestos ha desembocado en nuevos problemas como la aparición de plagas resistentes, contaminación medioambiental, peligros a la salud humana y animal y cambios en el microbiota del suelo (Del Puerto *et al.*, 2014).

2.4. Plaguicidas más Utilizados en Sinaloa

Sinaloa es uno de los estados más importantes del sector agrícola en México, lo cual ha propiciado el uso desmedido de agentes químicos necesarios para el control eficiente de diversas plagas para la protección de los cultivos y mantener una alta productividad. No obstante, varios de los agroquímicos comúnmente utilizados están catalogados como sumamente peligrosos o muy peligrosos por la OMS, como el Agromet 600 y Anacrot-600 (ONU, 2013). Estos insecticidas contienen en su composición química metamidofos y monocrotofos, los cuales están prohibidos en

países como Brasil, China, Pakistán, Indonesia, Japón, Costa de Marfil, ciertos países de la Unión Europea y en proceso de ser prohibidos en Estados Unidos (RAPAL, 2011), ya que son altamente tóxicos para aves y abejas, además de ser altamente persistentes en cuerpos de agua perjudicando la vida acuática (Lin *et al.*, 2020).

En 2020 ingresaron al estado 7,579,605 L y 1,742,857 Kg de productos químicos y biológicos, de los cuales 540,260 L pertenecían a plaguicidas prohibidos en al menos 31 países. Estos se distribuyeron en glifosato 70%, paraquat-diquat 8.75%, atrazina 7.50%, paraquat 7.50%, metamidofos 5% y monocrotofos 1.25% (CEAIP, 2021). La importación de este tipo de productos genera un riesgo para la salud humana y animal, así como también perjudica al medio ambiente puesto que generan contaminación en suelos y cuerpos de agua.

El Valle de Culiacán es considerado como una región agrícola de gran importancia a nivel nacional por disponer de una superficie de cultivo de aproximadamente 217,461 hectáreas bajo riego y 115,653 hectáreas bajo temporada, con una ganancia de producción en 2021 de 91,785 millones de pesos (mdp), posicionando al sector agrícola como el factor económico más dinámico en esta región (Morales-Zepeda, 2007; SIAP, 2021). El modelo de agricultura intensiva que impera en la región trae consigo un incremento en el uso de plaguicidas. De acuerdo con lo estimado por Leyva-Morales *et al.* (2014a), la aplicación de plaguicidas altamente peligrosos (PAPs) en el periodo 2011-2012 fue de aproximadamente 69.92 toneladas de ingrediente activo al año. Esto conduce a problemas de residualidad, contaminación y enfermedades, que se ven incrementados por la incorrecta disposición final de los envases de plaguicida vacíos, que en ocasiones son tirados o abandonados en las parcelas y en muchas ocasiones en los ríos (Cruz-Hernández, 2003).

Entre los principales plaguicidas más utilizados en el Valle de Culiacán, encontramos dentro de los insecticidas y fungicidas a los carbamatos mancozeb y oxamil, con un uso de 25,552.20 kg/año y 1782.1 kg/año, respectivamente. En la categoría de insecticidas, se encuentran los organofosforados y piretroides incluyendo a diclorvos, clorpirifos y malatión en el primer grupo con un uso aproximado anual de 5,686.16 kg/año y, por otro lado, la cipermetrina incluida en el segundo grupo con un uso anual de 2,109.24 kg/año. Si bien el uso de plaguicidas no se limita a insecticidas y fungicidas (Leyva-Morales *et al.*, 2014), también existe un alto uso de herbicidas para control de malezas, como es el caso del glifosato, que estudios actuales lo han considerado como riesgoso para la salud humana, animal y con capacidad para generar modificaciones en la microbiota nativa rizosférica (Johal y Huber, 2009).

2.4.1. Glifosato

El glifosato es un herbicida sistémico no selectivo de amplio espectro post-emergencia perteneciente al grupo de los fosfonatos, su método de aplicación es foliar y es altamente utilizado para el control de pastos anuales y perennes, malezas de hoja ancha y ciperáceas (Steed *et al.*, 2013; Martinez-Ledezma, 2019). La molécula del glifosato se descubrió en la década de 1950, por el químico suizo Henry Martin; sin embargo, fue Monsanto quien adquirió los derechos del compuesto en 1970, creando en 1974 al herbicida Roundup (nombre comercial producido por Monsanto comprada por Bayer en 2018, cuya patente expiró en 2000). A partir de 1996, el uso de este producto se incrementó significativamente con la comercialización de semillas transgénicas resistentes al glifosato de cultivos importantes como maíz, algodón, soja y canola (Székács *et al.*, 2018).

El glifosato fue el herbicida más utilizado a nivel mundial en 2014, con 747 y 79 millones de kilogramos aplicados en suelos agrícolas y no agrícolas, respectivamente (Benbrook, 2016). Probablemente, el éxito comercial de este herbicida radicó en su alta eficacia como herbicida sistémico de amplio espectro (Bell *et al.*, 2016), su presunta seguridad para los humanos (EFSA, 2015; APVM, 2016; EPA, 2022) y la producción de cultivos transgénicos tolerantes a glifosato como algodón, soja, alfalfa, maíz, remolacha azucarera y canola (Monsanto Company, 2017). Monsanto patentó en algunos países la soja transgénica resistente a glifosato, conocida como soja RR (Roundup Ready) o soja 40-3-2, tecnología que permite la aplicación del herbicida en cobertura total sin afectar el cultivo.

El glifosato es un zwitterión de bajo peso molecular y volatilidad, su molécula está formada por una fracción de glicina y un radical aminofosfato unido como sustituyente de uno de los hidrógenos del grupo α -amino, esto permite que sea un compuesto altamente polar con una solubilidad en agua de 10.5 g/L a 20°C, además de ser un agente quelante (Carretta *et al.*, 2019) (Figura 2). El glifosato no posee grupos cromóforos ni fluoróforos por lo que es necesario el uso de metodologías de derivatización utilizando compuestos como el 9-fluorenilmetilcloroformiato (FMOC-Cl) para su cuantificación por cromatografía (Arkan y Molnár-Perl, 2015; Hanke *et al.*, 2008). Casi todas las formulaciones comerciales del glifosato son fáciles de manejar, muy solubles en agua y químicamente muy estables en cualquier proporción. A lo anterior se suma la baja tensión de vapor, lo cual significa que las formulaciones de uso en el campo no son volátiles. Existen diversas

patentes de herbicidas que contienen como ingrediente activo al glifosato entre los más populares y que se comercializan en México están Faena®, Cacique 480®, Nobel 62%®, Lafam®, Eurosato®, Agroma®, Glyfisol Max®, Durango™, Coloso Total®, Coloso Max® y Rainbow Glifosato 41 Sl®, estos productos contienen glifosato en diferentes porcentajes en peso, estos van desde un 41% hasta el 88.8% (deTODO, 1999; Lanafil, 2019; Corteva, 2020; Koor Agro, 2020; Rainbow Agrosiences S.A.S, 2020; Dragon, 2023). Se ha determinado que la vida media del glifosato contenido en estos productos comerciales en suelo es de 8 a 280 días después de su aplicación (Powles, 2014) y en cuerpos de agua tiene una vida media entre 13.8 y 301 días (Marques *et al.*, 2021). Asimismo, el glifosato se utiliza comúnmente como desecante pre-cosecha, esto es, como agente para secar las hojas de los cultivos y facilitar la cosecha, lo cual se ha reportado que contamina el néctar y el polen incluso de plantas no objetivo representando un riesgo para polinizadores (Zioga *et al.*, 2022).

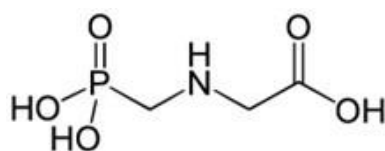


Figura 2. Estructura química de la molécula del herbicida Glifosato (Longo *et al.*, 2015).

2.4.1.1. Mecanismo de acción. El glifosato es un herbicida no selectivo de acción sistémica, de amplio espectro, y adecuado para el control de muchas especies de malezas en zonas agrícolas y urbanas, pudiéndose utilizar como un tratamiento de post emergencia al follaje. El glifosato tiene la propiedad de ser adsorbido rápidamente por las partículas de suelo, lo cual disminuye su movilidad, impidiendo su acción sobre semillas que existieran por debajo del suelo y su absorción por las raíces (Varona, Henao, Díaz, *et al.*, 2009).

El mecanismo de acción del glifosato tiene su lugar en la inhibición de la enzima 5-enolpiruvil-shikimato-3-fosfato-sintetasa (EPSPS) de la vía del shikimato o ácido shikímico, la cual es una vía que se encuentra en plantas, algas, algunos hongos y bacterias, pero no en animales ni protozoarios (Pérez-González, 2014). Esta vía está involucrada en la biosíntesis de aminoácidos aromáticos, tales como triptófano, fenilalanina y tirosina (Figura 3) (Varona *et al.*, 2009). La EPSPS es sintetizada en el núcleo y se transloca a los cloroplastos donde forma parte de la ruta del ácido

shikímico (González-Ortega y Fuentes-Ponce, 2022), y cataliza la reacción entre los compuestos shikimato-3-fosfato (S3P) y fosfoenolpiruvato (PEP) para formar 5-enolpiruvil shikimato-3-fosfato (EPSP) y fósforo inorgánico, siendo en este paso específico donde el glifosato actúa como inhibidor competitivo del PEP, es decir, se acopla a la molécula de S3P antes que el PEP, formando un complejo homólogo al acoplarse en el sitio activo de la enzima EPSPS causando su inhibición (Kogan y Alister, 2013). Esto impide la producción de proteínas y previene la formación de compuestos de pared celular como la lignina (Lopez *et al.*, 2002), producción de fenilpropanoides (El-Azaz-Ciudad *et al.*, 2016) y disminución de mecanismos de defensa (Mula, 2012). Asimismo, la vía del ácido shikímico se une con el metabolismo de carbohidratos y es el punto de partida para otras rutas de biosíntesis, por lo que el glifosato también disminuye la biosíntesis de vitaminas, cofactores enzimáticos y ciertos metabolitos secundarios como el tetrahidrofolato y la ubiquinona. La inhibición de esta ruta produce una sobreacumulación del shikimato, provocando síntomas como marchitez y muerte a los 3-7 días (Cortes-Tolalpa *et al.*, 2011). El glifosato también puede afectar otras dos enzimas, la clorismato mutasa y prefrenato hidratasa, ambas también participantes en la vía del shikimato. Adicionalmente, se ha reportado que puede afectar otras enzimas no relacionadas con la vía del shikimato, como la ácido invertasa, la cual participa en el metabolismo de azúcares en la caña de azúcar (Su *et al.*, 1992).

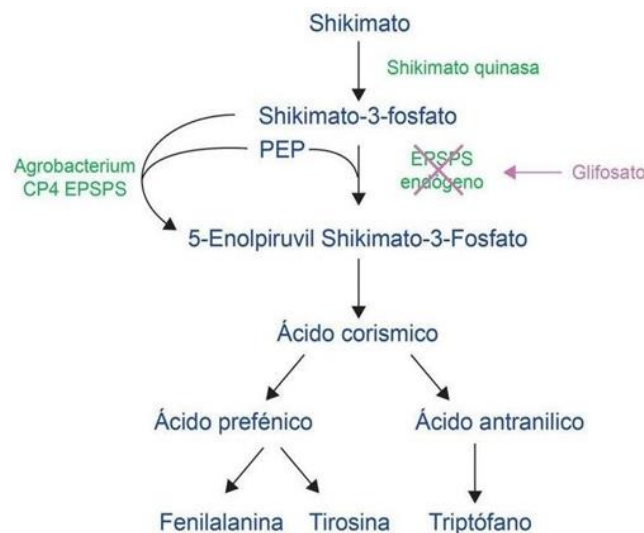


Figura 3. Mecanismo de acción del glifosato, actúa como inhibidor de la enzima EPSPS (5-enolpiruvatoshikimato-3-fosfato sintasa) impidiendo la síntesis de aminoácidos aromáticos como la fenilalanina, tirosina y triptófano. Tomado y modificado de Dill (2005).

2.4.1.2. Toxicidad e impacto en la salud y el medio ambiente. La exposición al glifosato ha generado preocupación sobre sus posibles efectos adversos para la salud humana, animal y medio ambiente, ya que se ha ligado la generación de diversas enfermedades con la exposición directa e indirecta al glifosato. Entre las más estudiadas se encuentran problemas dermatológicos, enfermedades crónico-degenerativas, infertilidad y trastornos como el autismo (Mesnage *et al.*, 2013; Halwachs *et al.*, 2016; Shaw, 2017; Upadhyay *et al.*, 2019). Por ello, la Agencia de Protección Ambiental (EPA) ubicó al glifosato en categoría III de toxicidad por ser irritante en los ojos (Reaves, 2022). A su vez, la IARC lo ha clasificado en el grupo 2A definiéndolo como posible cancerígeno en humanos (IARC, 2016). Algunas formulaciones comerciales que contienen este compuesto se encuentran en la categoría I y II de toxicidad, debido a que la mezcla con otras sustancias causa la irritación primaria de los ojos o la irritación de la piel (Kaczewer, 2002; Julieta-Salazar y Aldana-Madrid, 2011).

Estudios enfocados en enfermedades crónico-degenerativas como es el caso de la leucemia, han determinado que la exposición directa e indirecta a este herbicida puede generar la presencia de esta enfermedad en niños de entre 0 y 14 años (Monge *et al.*, 2007). También se ha estudiado su relación con enfermedades como el autismo observándose altos niveles de glifosato en orina (34.4 µg/g de creatinina) en niños con este padecimiento, manifestándose en retraso del lenguaje, a lo que ellos concluyeron que el glifosato podría estar asociado a posibles alteraciones de microbiota, mitocondrias y neurotoxicidad (Shaw, 2017). En mujeres, se ha encontrado que exposiciones prolongadas a este herbicida generan alteraciones en tejido uterino y oocitos, así como también alteración en los niveles séricos de progesterona y estrógeno (Kaboli Kafshgiri *et al.*, 2022). En Campeche, se encontró la presencia de glifosato en aguas subterráneas (1.42 µg/L) y en muestras de orina (0.47 µg/L) de los jornaleros en los campos agrícolas ubicados en la comunidad de Hopelchén, esto muestra indicios de un uso y una exposición excesiva hacia el glifosato, lo cual presenta un riesgo para la salud de los trabajadores ya que se encuentran propensos a desarrollar enfermedades como cáncer o problemas hepáticos debido al mal manejo de este agroquímico (Rendon-von Osten y Dzul-Caamal, 2017).

Por otro lado, se ha reportado la presencia de glifosato en diversas matrices alimentarias en países alrededor del mundo. En Brasil, se reportó la presencia de glifosato en muestras de arroz, uvas y mango (Anvisa, 2020). En Europa, la EFSA detectó al glifosato en muestras de cebada, lentejas, trigo, alforfón, avena y centeno, siendo estas gramíneas de alta importancia económica (Carrasco

Cabrera y Medina Pastor, 2021). Del mismo modo, se ha determinado la presencia del glifosato en otras matrices como el maíz, soya, pescado, miel y hasta en productos procesados como lo son la comida para bebés, esto presenta un gran riesgo para la salud humana, ya que este herbicida se mantiene en muchos de los alimentos que se consumen de manera cotidiana propiciando la generación de enfermedades por la exposición indirecta hacia este agroquímico (Rodrigues y de Souza, 2018; de Souza *et al.*, 2021; Alarape *et al.*, 2023; de Moraes Valentim *et al.*, 2024).

Estudios recientes sobre los impactos del glifosato en la salud animal ha demostrado en gallos que la exposición a dosis prolongadas de glifosato entre 33.4 mg/kg y 200 mg/kg, induce la inhibición de la autofagocitosis provocando acumulación de líquido hepático, dando lugar al incremento nuclear de la enzima HDAC3, que se sabe altera las marcas epigenéticas del gen *PPAR α* , culminando en la inhibición de la ruta de oxidación de ácidos grasos (Cai-Yu *et al.*, 2023). Esta información se complementa con estudios realizados en ratones, donde se encontraron modificaciones en la composición celular de las células hepáticas y fagocitosis a nivel macrófagos (Jiangpeng *et al.*, 2023).

El impacto del uso del glifosato no se limita solo a la presencia de enfermedades, si no también se ha estudiado los efectos que este puede provocar en el ambiente. En el suelo, se observó la modificación de la microbiota nativa, ya que este herbicida tiene la propiedad de ser un agente quelante de los iones Mn^{+2} , generando una reducción de los microorganismos reductores de Mn como *B. cereus* y un aumento en la población de organismos oxidantes, donde se encuentran varios fitopatógenos, como el hongo *G. graminis var. tritici* que produce la enfermedad “*take-all*” o pietín en gramíneas como el trigo y sorgo y leguminosas como la soya, que son cultivos de alta importancia económica en el país (Johal y Huber, 2009). En estudios realizados en cuerpos de agua, se determinó una relación directa entre la presencia de glifosato en estos ambientes con la fecundidad del crustáceo *Ceriodaphnia reticulata*, organismo base de las cadenas tróficas de los sistemas de agua (María Gagnetten *et al.*, 2014). Asimismo, se han realizado diversos estudios relacionados al efecto del glifosato en distintas especies de peces donde se han descrito diversas patologías, entre las más destacables están las enfermedades hepáticas que fueron evaluadas en carpas comunes juveniles, observándose una acumulación de especies reactivas de oxígeno (EROs) seguido de una inflamación hepática (Liu *et al.*, 2021). En embriones de pez cebra (*Danio rerio*) se ha descrito la presencia de malformaciones cardíacas tales como alargamiento de las cavidades cardíacas y adelgazamiento de las paredes ventriculares, además de otras afecciones como

disminución de tamaño y anomalías al momento de eclosionar (Lu *et al.*, 2022). De igual manera, se ha reportado que el glifosato afecta negativamente a organismos polinizadores como las abejas, reduciendo la capacidad de aprendizaje asociativo de las recolectoras y las habilidades sensoriales y cognitivas de las abejas jóvenes, así como también promueve retrasos en el desarrollo de las crías (Farina *et al.*, 2019).

2.4.1.3. Vías de degradación del glifosato. La degradación del glifosato puede llevarse a cabo de manera abiótica o biótica, donde la primera toma lugar en la interacción de la molécula con temperaturas que oscilan entre los 30°C y 40°C, que propician el rompimiento de la molécula en AMPA o sarcosina, siendo más común su transformación a AMPA debido a que la ruptura del enlace C-N es energéticamente más favorable que el enlace C-P (Moller *et al.*, 2024). Libre en el ambiente, el glifosato puede sufrir mineralización, inmovilización o lixiviación, pero no sufre volatilización, siendo la mineralización el principal mecanismo de degradación (Mamy *et al.*, 2005; Kwiatkowska *et al.*, 2014). Por otro lado, la degradación biótica ocurre asociada con microorganismos que se encuentran en el ecosistema, los cuales podrían utilizarse como agentes biológicos para la disminución del glifosato en suelo, siendo esta una opción eficiente y agroecológica puesto que es sustentable y autosuficiente. La degradación microbiana del glifosato se ha reportado en bacterias, actinomicetos, hongos y algunas algas, siendo las bacterias los microorganismos más estudiados (Shushkova *et al.*, 2010; Castrejón-Godínez *et al.*, 2021). La mayoría de las especies reportadas utilizan el glifosato como única fuente de fósforo y pocas utilizan el glifosato como única fuente de nitrógeno y carbono (Moneke *et al.*, 2010; Feng *et al.*, 2020).

El metabolismo del glifosato involucra tres intermediarios: el AMPA, el acetilglifosato y la sarcosina, producidos por diferentes vías metabólicas (Zhan *et al.*, 2018). Entre las vías mayormente descritas está la ruptura del enlace carboximetileno-nitrógeno (C-N), este metabolismo puede ser catalizado por diversas enzimas como la glifosato oxidoreductasa, la cual es codificada por el gen *gox* (Zhang *et al.*, 2023), la enzima glicina oxidasa, codificada por el gen *thiO* (Hernández-Guijarro *et al.*, 2021) y la enzima GOW, codificada por el gen *goW* (Zhang *et al.*, 2023), donde la ruptura de la molécula da como productos al AMPA y al glioxilato; subsecuentemente, el glioxilato puede metabolizarse por el ciclo del ácido tricarboxílico en CO₂,

mientras que el AMPA puede ser excretado al ambiente. El AMPA puede ser metabolizado por la enzima C-P liasa para la producción de fósforo y metilamina (fuente directa de nitrógeno) o transformado a fosfonoformaldehído por una transaminasa (Jacob *et al.*, 1988). La metilamina se transforma en amoníaco y formaldehído por la metilamina deshidrogenasa pasando al ciclo del ácido tetrahidrofólico (THFA), mientras que el fosfonoformaldehído es transformado a formaldehído por una enzima de tipo fosfonatasa para ser utilizado en el ciclo del THFA (Pipke *et al.*, 1987). La segunda vía de degradación consiste en el uso del glifosato como fuente de fósforo directo con la ruptura del enlace C-P catalizado por la enzima C-P liasa, que degrada el glifosato en fosfato y sarcosina, donde la sarcosina es metabolizada por la sarcosina oxidasa a glicina y formaldehído; la glicina es directamente metabolizada por el microorganismo, mientras que el formaldehído entra en el ciclo de THFA para producir CO₂ y NH₄⁺ (Kishore y Jacob, 1987; Borggaard y Gimsing, 2008) (Figura 4).

Se han reportado la existencia de otras vías de degradación de glifosato, como la acetilación del compuesto en la cepa *Achromobacter sp.* Kg16, donde se determinó que la cepa fue capaz de crecer en medio suplementando con glifosato como fuente de fosfato de manera exponencial durante 40 horas, y al cuantificar la cantidad de glifosato residual en el medio se observó la acumulación del compuesto acetilglifosato, concluyendo que la bacteria utilizaba este mecanismo para metabolizar el glifosato, aunque el mecanismo aún no se conoce (Shushkova *et al.*, 2016).

A nivel molecular, el complejo C-P liasa se describe como un complejo multienzimático conformado por cinco subunidades, las cuales son codificadas por el operón *phn* (*phnCDEFGHIJKLMNOP*), el cual se ha descrito principalmente en *E. coli* como parte del regulón Pho y que participa en el catabolismo de organofosfonatos, que incluye el glifosato y el AMPA (Jochimsen *et al.*, 2011). Los cistrones *phnGHIJK* están relacionados con la síntesis de las subunidades que conforman el complejo C-P liasa, siendo de mayor importancia los cistrones *H* y *J*, ya que en el primero codifica una proteína que facilita el ensamble del complejo y el segundo codifica la subunidad catalítica (Jochimsen *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2023). Los demás cistrones del operón se han relacionado con mecanismos de transporte, como lo son los sistemas de transporte ABC (ATP-Binding Cassete) (*phnCDE* y *phnKL*) (Chen *et al.*, 1990; Metcalf y Wanner, 1993; Hove-Jensen *et al.*, 2011), así como también con sistemas de regulación genética y transporte (*phnF* y *phnNOP*) (Metcalf y Wanner, 1993; Hove-Jensen *et al.*, 2010).

Asimismo, se ha relacionado la posible participación de las enzimas 2-fosfonoacetiladehído

hidrolasa y fosfonoacetato hidrolasa, codificadas por los genes *phnYZ* y *phnAB* respectivamente, en el metabolismo de organofosforados posiblemente incluyendo el glifosato (Kulakova, 2001; Martinez *et al.*, 2010; McSorley *et al.*, 2012; Chen, 2022). Por otro lado, se ha asociado con la degradación de glifosato a los genes *glpA* y *glpB*, que codifican para las enzimas fosfonotransferasa y para una proteína oxidorreductasa, respectivamente, puesto que se observó que la bacteria *Pseudomonas pseudomallei* 22 fue capaz de metabolizar hasta un 50% del glifosato inicial a una concentración de 170 mg/L. Sin embargo, se determinó que solo el gen *glpB* estaba relacionado con la degradación, puesto que se evaluó la función de cada gen por separado en la cepa de *E.coli* JM103, observándose que al incorporar un plásmido que incluía solo al gen *glpA*, ésta no era capaz de metabolizar glifosato sino tolerarlo a concentraciones de hasta 1 g/L de glifosato. En contraste, a la cepa que se le incorporó el plásmido con el gen *glpB*, si mostró capacidad de degradar glifosato como fuente de fósforo (Peñaloza-Vazquez *et al.*, 1995).

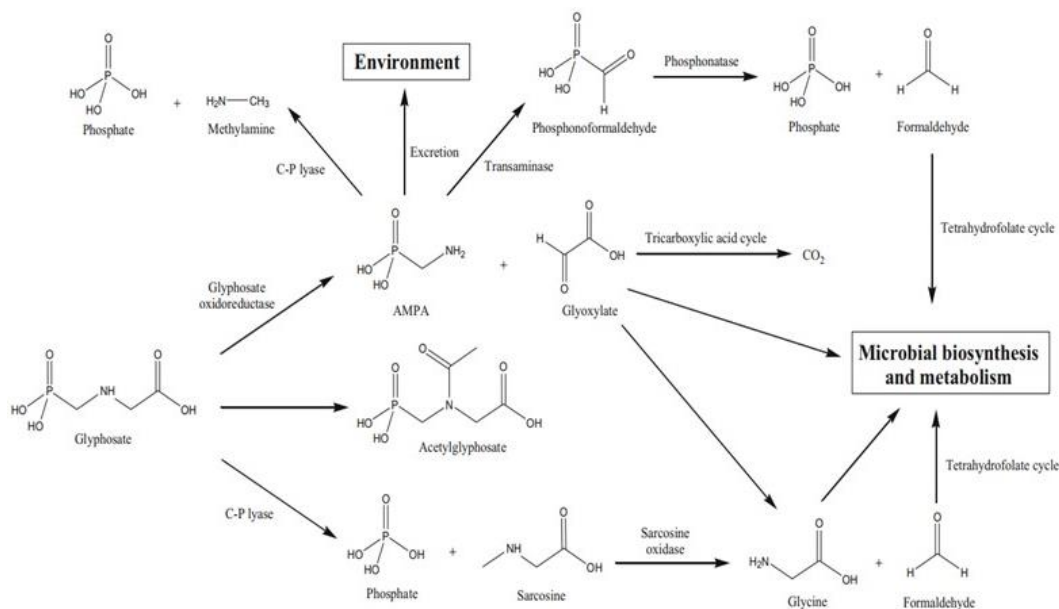


Figura 4. Vías de degradación de glifosato en bacterias. Tomado de Hui *et al.* (2018).

2.4.2. AMPA (Ácido aminometilfosfónico)

El ácido aminometilfosfónico (AMPA) es el principal producto de la degradación de glifosato. El

AMPA es un ácido orgánico débil con un grupo fosfonato, que está compuesto por una fracción alcalina y otra ácida que le confiere carácter anfótero, es decir, que puede reaccionar tanto como un ácido como una base, tiene baja volatilidad y es altamente polar con una solubilidad en agua de 146.6 g/L (Campanale *et al.*, 2022; Yusa *et al.*, 2021). El AMPA es tóxico y se adsorbe fuertemente a las partículas del suelo presentando una baja capacidad de lixiviación, pudiendo encontrarse en sedimento, agua superficial, interfaz sedimento-agua y agua subterránea, pudiendo transportarse de ambientes terrestres a subterráneos y acuáticos (Singh *et al.*, 2020; Campanale *et al.*, 2022). Similar al glifosato, el AMPA es persistente en el ambiente y puede ser degradado biológicamente en suelos y sedimentos. En el ambiente, se ha reportado que el AMPA tiene una vida media de hasta 91 días en cuerpos de agua y 240 días en algunos tipos de suelo, lo cual puede variar dependiendo de las características fisicoquímicas del suelo (Campanale *et al.*, 2022). De hecho, el AMPA representa un problema en cuanto a su persistencia, ya que se ha demostrado que puede acumularse en mayor cantidad que el glifosato en suelos. Un estudio de la Unión Europea demostró que se encontraron residuos de glifosato y AMPA en un rango de 0.05 mg/kg hasta valores de 2 mg/kg, siendo las concentraciones de AMPA generalmente más altas que las de glifosato en todos los suelos muestreados (Silva *et al.*, 2018).

Se ha encontrado que el AMPA puede descomponerse de manera natural en el suelo o transformado en ácido fosfórico mediante la acción bacteriana y finalmente a dióxido de carbono y fosfato inorgánico (Schuette, 1998). No obstante, la degradación de glifosato no es el único medio que contribuye con la acumulación de AMPA ya que se ha encontrado como producto de degradación de fosfonatos industriales y domésticos tales como detergentes, tratadores de aguas, extintores, entre otros (Grandcoin *et al.*, 2017). También se ha reportado como producto de fotodegradación de aminopolifosfatos en agua de zonas agrícolas, aguas superficiales, sedimentos y suelos subterráneos poco profundos (Grandcoin *et al.*, 2017).

2.4.2.1. Impactos en la salud y el medio ambiente. De la misma manera que se ha evaluado los efectos adversos que se producen ante la exposición del glifosato, también se ha investigado el efecto del AMPA, su principal metabolito de degradación. Entre los estudios realizados, se observó una relación entre el consumo de agua contaminada con AMPA de pozos y drenajes con el desarrollo de enfermedades como la diabetes e hipertensión (Leyva-Soto *et al.*, 2018). Del mismo

modo, se ha reportado la presencia de AMPA en muestras de sangre de mujeres gestantes y sus neonatos, quienes no habían sido expuestos ni al glifosato ni al AMPA, esto puede estar relacionado con la presencia de AMPA en distintas matrices alimentarias como frutas y vegetales procesados, miel de abeja, comida de bebé y en productos derivados de la soya, maíz y remolacha azucarera, lo cual puede indicar que existe una exposición indirecta hacia este compuesto que propicia el desarrollo de diversas enfermedades en diferentes grupos etarios (Ehling y Reddy, 2015; Rodrigues y de Souza, 2018; Savini *et al.*, 2019; de Souza *et al.*, 2021).

Se ha estudiado también los impactos ecológicos que este metabolito causa, entre los hallazgos más importantes, se demostró que este compuesto provoca cambios en la microbiota intestinal en peces como la trucha común (*Salmo trutta* f. *fario*), reduciendo la presencia de ocho géneros de bacterias dentro de las que destacaron: *Escherichia*, *Polymorphobacter*, *Paracoccus* y *Lactococcus*, lo cual puede representar un riesgo para la salud de estas especies de peces, demostrando la importancia de la reducción de este compuesto tanto en suelos como en cuerpos de agua (Hembach *et al.*, 2024).

Se ha investigado los efectos del AMPA en la lombriz de tierra *Eisenia andrei*. En este estudio, se sometió a los especímenes a diferentes concentraciones del compuesto en ensayos tanto agudos como crónicos. Los resultados indicaron una disminución significativa de la biomasa (peso) en concentraciones elevadas y un incremento en la cantidad de lombrices juveniles y capullos, concluyendo que las lombrices de tierra descendientes de progenitores que crecieron en suelos contaminados con AMPA pueden experimentar un crecimiento reducido, lo cual limita sus funciones beneficiosas en el ecosistema del suelo (Domínguez *et al.*, 2016).

2.5. Biorremediación

La biorremediación es una rama de la biotecnología que se basa en el uso de organismos vivos como las bacterias, algas, hongos y plantas utilizando sus mecanismos biológicos inherentes para la degradación, remoción, inmovilización, eliminación o detoxificación de contaminantes del suelo y el agua (Bala *et al.*, 2022). Estos procesos involucran comúnmente reacciones de óxido-reducción donde los contaminantes reducidos se oxidan y los contaminantes oxidados se reducen (Darwin,

2020). Actualmente, la biorremediación es una de las técnicas verdes más prometedoras para la remoción de contaminantes químicos, dado que el uso de microorganismos y sus enzimas son eficientes, seguros y tienen un buen costo-beneficio (Ojuederie y Babalola 2017, Zhan *et al.* 2018). Por tal, se ha avanzado en el desarrollo de procesos de biorremediación efectivos, económicos y socialmente viables, siendo una de las alternativas cada vez más populares entre los métodos de tratamiento para contaminantes (Sharma *et al.* 2018). Así, la biorremediación resulta prometedora para la reducción de los niveles de plaguicidas en los suelos agrícolas contribuyendo a su restauración.

2.5.1. Tipos de Biorremediación

La biorremediación se clasifica de manera global en dos tipos: *in situ*, donde los organismos son usados directamente en el ecosistema que va a ser intervenido; y *ex situ*, donde se extrae parte el suelo para tratarlo en cámaras o biopilas fuera del lugar de origen (Osorio, 2022). Dentro de la biorremediación *in situ* se encuentra la diseñada y la intrínseca. La biorremediación diseñada utiliza microorganismos específicos en el área contaminada, ya sea microorganismos autóctonos o modificados por ingeniería genética. La biorremediación intrínseca utiliza sitios contaminados de manera no invasiva estimulando la población microbiana existente (Bala *et al.*, 2022). Así, la biorremediación diseñada e intrínseca se pueden llevar a cabo mediante distintas técnicas. Dentro de la biorremediación diseñada se encuentra la bioaumentación, que consiste en adicionar inoculantes biológicos con capacidad de degradar contaminantes y así promover la biodegradación y biotransformación (Ortiz-Pérez, Bocanegra, *et al.*, 2019).

La biorremediación puede verse afectada por ciertos factores tanto físicos como químicos, como la temperatura, el pH, la humedad, los niveles de oxígeno, presencia de metales y la cantidad de nutrientes en el suelo, los cuales pueden influir en la biorremediación de diversas formas. Las temperaturas altas o bajas afectan las reacciones químicas y enzimáticas de las bacterias, siendo las temperaturas óptimas reportadas para el crecimiento bacteriano entre 20°C y 35°C (Iturbe-Arguelles, 2010). El pH es importante para el crecimiento de los microorganismos, donde un pH entre 6.5 y 7.5 es óptimo para lograr el crecimiento bacteriano, además de que influye

principalmente en la actividad enzimática, desnaturalización y modificación de la estructura de proteínas, así como su función biológica (Ratzke y Gore, 2018), y también afecta la permeabilidad de la membrana celular bacteriana causando la pérdida de iones y nutrientes esenciales (Jin y Kirk, 2018). El contenido de humedad es determinante para que los microorganismos sobrevivan y mantengan una actividad metabólica que favorezca la degradación de contaminantes (Bala *et al.*, 2022).

Los niveles de oxígeno toman importancia dependiendo si la bacteria es del tipo aerobia, anaerobia o anaerobia facultativa, donde en caso de ser aerobia estricta, la bacteria requerirá del oxígeno durante la respiración celular al utilizar esta molécula como donador de electrones en la cadena respiratoria. La presencia de ciertos metales en el ambiente es esencial para el crecimiento de hongos y bacterias, sin embargo, en cantidades excesivas resultan tóxicos y pueden inhibir el metabolismo celular (Bala *et al.*, 2022). Por último, la cantidad de nutrientes puede influenciar el crecimiento y la reproducción de los microorganismos, así como la tasa de biodegradación, la cual es crucial para formación de compuestos dentro de la célula y para diversos procesos biológicos como la obtención de energía, la división celular y la síntesis de la mayoría de las moléculas. Las bacterias necesitan de macromoléculas como carbono, nitrógeno, hidrógeno, fósforo y de micronutrientes como el potasio, sodio, calcio, magnesio, entre otros (Iturbe-Arguelles, 2010). Por ello, la optimización de diversos factores es importante para determinar las condiciones óptimas de degradación, y con ello maximizar la degradación de glifosato y AMPA en los inoculantes bacterianos (Motharasan *et al.*, 2021).

2.5.2. Inoculantes Bacterianos para Biorremediación

Un inoculante bacteriano es una preparación que contiene cepas específicas de bacterias beneficiosas, destinadas a ser introducidas en el suelo o en las semillas para promover el crecimiento y la salud de las plantas (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Estos inoculantes suelen incluir bacterias promotoras del crecimiento vegetal, biocontroladoras de patógenos y degradadoras de ciertos compuestos tóxicos que contaminan los suelos de cultivo (Glick, 2012).

Las bacterias a utilizarse para la bioaumentación deben presentar algunas características necesarias

para su establecimiento, el mantenimiento en el suelo y la actividad metabólica que se requiere para el proceso de bioaumentación. Entre estas características están la capacidad de producción de biosurfactantes que le permitan incrementar la solubilidad en agua y disponibilidad de compuesto orgánicos (Zhang *et al.*, 2003); la ausencia de genes de virulencia asociados a cultivos de importancia económica con la finalidad de evitar enfermedades en los cultivos; presentar la capacidad metabólica para la degradación de un contaminante o de varios contaminantes de interés; no presentar antagonismo ante otros microorganismos nativos del suelo que provoque un desbalance en la microbiota y por ende la salud de los suelos (Mrozik y Piotrowska-Seget, 2010). Asimismo, es deseable que la bacteria a utilizarse para biorremediación también posea características como las propiedades promotoras de crecimiento en plantas, las cuales ayudan al crecimiento, producción y la mejora del uso de nutrientes por la planta, funcionando, así como un coadyuvante en el desarrollo de los cultivos. Entre las propiedades promotoras del crecimiento en plantas se encuentra la fijación de nitrógeno, la actividad ACC deaminasa, la producción de ácido indolacético, la producción de ácidos orgánicos, la producción de acetoina, la solubilización de fosfato inorgánico, la producción de sideróforos y la mineralización de fitatos (Massot *et al.*, 2021). La fijación de nitrógeno atmosférico es un proceso que transforma el N_2 en nitratos (NO_3^-), que son compuestos asimilables por las plantas, y este proceso se completa con la desnitrificación, donde los nitratos se convierten en nitrógeno gaseoso y se devuelve a la atmósfera. Los sideróforos son pequeñas moléculas con una alta afinidad por el hierro y actúan como agentes quelantes del mismo cuando este se encuentra en presencia con otros metales, reduciéndolo a su forma más soluble y aprovechable para la nutrición (Aguado-Santacruz *et al.*, 2012). Finalmente se ha reportado la capacidad de ciertas bacterias para la síntesis de fitohormonas como las auxinas, citocininas y giberelinas, relacionadas con procesos de crecimiento y desarrollo en las plantas, como son el crecimiento de las raíces y tallo, germinación y división celular (Asuncion-Cruz *et al.*, 2021). Incluso, las bacterias con propiedades promotoras del crecimiento pueden de manera indirecta funcionar como un agente de biocontrol ya que pueden incrementar la resistencia hacia fitopatógenos, ya sea a través de la competencia de nutrientes, por antagonismo o al inducir la resistencia sistémica (Lopes *et al.*, 2021).

La aplicación de inoculantes es una tecnología ampliamente utilizada para la reducción de suelos y cuerpos de agua contaminados con hidrocarburos aromáticos policíclicos, petróleo o gasolina, donde se ha observado la capacidad de bacterias como *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* sp.,

Bacillus sp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Stenotrophomonas maltophilia* para degradar compuestos como fenantreno, pireno y α -benzopireno en un 92%, 64% y 65%, respectivamente en concentraciones iniciales de 1,000 mg/kg, utilizando dichos compuestos como fuente de carbono (Zafra *et al.*, 2017). En otro estudio, se determinó la capacidad de degradación de estos mismos compuestos en *Mycobacterium fortuitum*, *Microbacterium polyisoprenivorans* y *Microbacteraceae bacterium*, donde estas cepas mostraron una eficiencia de degradación del 92% (Jacques *et al.*, 2008). Así mismo, se ha evaluado las propiedades promotoras de cepas del mismo género como *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pasteurii* y *P. putida* y su interacción con ciertas especies de plantas como *Platycladus orientalis* (árbol de la vida), *Arabidopsis thaliana*, *Lavandula dentate* (cantueso) y *Glycine max* (Soya), observándose la presencia de fitohormonas como citoquininas, IAA, giberelinas, que contribuyen al crecimiento y desarrollo de la planta y raíces (Kang *et al.*, 2014; Mishra *et al.*, 2018; Kaushal, 2019; Kumar y Verma, 2019).

2.5.2.1. Desarrollo de inoculantes conformados por consorcios. La biorremediación, una estrategia vital en la mitigación de contaminantes ambientales, depende crucialmente de la presencia adecuada de microorganismos en entornos específicos y bajo condiciones óptimas para la degradación efectiva de compuestos contaminantes. Sin embargo, este proceso puede ser altamente complejo para especies microbianas individuales debido a la diversidad de sustratos y condiciones ambientales variables. En contraste, en la naturaleza los microorganismos frecuentemente forman comunidades complejas y dinámicas que cooperan para facilitar el crecimiento y el reciclaje de nutrientes de manera más eficiente que las poblaciones microbianas aisladas (Ochoa-Carreño y Montoya-Restrepo, 2010).

Estas comunidades microbianas, conocidas como consorcios, representan un enfoque prometedor en la biorremediación. Un consorcio microbiano consiste en dos o más poblaciones microbianas de diferentes especies que interactúan simbióticamente en un sistema integrado, donde cada miembro se beneficia de las actividades metabólicas de los otros. Este tipo de cooperación permite a los consorcios realizar funciones complejas que podrían ser inaccesibles para cepas individuales, mediante el intercambio de metabolitos y señales moleculares, y la asignación eficiente de tareas según las capacidades específicas de cada miembro (Brenner *et al.*, 2008).

Las interacciones entre microorganismos dentro de los consorcios pueden ser variadas y complejas,

influyendo directamente las conversiones metabólicas posibles y la estabilidad global de la comunidad. Estas interacciones incluyen mutualismo, donde ambas especies se benefician, y comensalismo, donde una especie se beneficia sin afectar significativamente a la otra. Estos tipos de interacciones son cruciales en el diseño de consorcios para aplicaciones de biodegradación, donde se busca maximizar la eficiencia y la robustez del proceso frente a condiciones ambientales cambiantes (Faust y Raes, 2012).

Existen dos tipos principales de consorcios: los naturales, que se aíslan de comunidades microbianas existentes en el medio ambiente, y los sintéticos, que se crean artificialmente mediante el cultivo conjunto de microorganismos conocidos en condiciones controladas. Los consorcios sintéticos ofrecen la ventaja de poder diseñarse específicamente para degradar contaminantes particulares, optimizando las vías metabólicas y las interacciones entre los miembros del consorcio para maximizar la eficiencia del proceso de biorremediación (Liang *et al.*, 2020).

El diseño y la implementación de consorcios microbianos, especialmente los sintéticos, representan una innovadora y poderosa herramienta en las ciencias ambientales, facilitando la degradación efectiva de contaminantes y la restauración de ecosistemas afectados. Estos consorcios no solo cumplen con los objetivos de degradación deseada, sino que también son más robustos y estables frente a las fluctuaciones ambientales a largo plazo, promoviendo así la sostenibilidad y la salud ambiental (Kumar *et al.*, 2017). Esta capacidad de adaptación y eficiencia hace que los consorcios microbianos sean especialmente adecuados para enfrentar desafíos ambientales complejos, como la degradación de herbicidas y la restauración de la biodiversidad, destacando su papel crucial en la gestión ambiental contemporánea y futura (Brenner *et al.*, 2008).

Diversos estudios se han realizado acerca del uso de los consorcios para la biorremediación en ambientes marinos, se ha investigado el uso de co-cultivos de *B. subtilis* y *P. aeruginosa* para la reducción de hidrocarburos de petróleo, compuestos aromáticos volátiles e hidrocarburos de n-alcános de bajo y alto peso molecular, llegando a degradar hasta 57.56% de éstos, gracias a la compatibilidad con los ciclos biogeoquímicos (Ghorbannezhad *et al.*, 2022). Asimismo, las investigaciones no se limitan en ambientes marinos, también se han estudiado para su uso en campos agrícolas para la degradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), mediante la formación de consorcios bacterianos sintróficos (Macchi, 2018).

2.5.3. Estudios en Bacterias Degradadoras de Glifosato y AMPA

Debido a la toxicidad y presión del glifosato, las bacterias han desarrollado de manera natural diferentes mecanismos de degradación o tolerancia hacia este herbicida con la finalidad de metabolizarlo para utilizarlo como energía para su desarrollo, ya sea como fuente de fósforo o carbono. Por tal, se ha observado como estrategia agroecológica el aislamiento y caracterización de bacterias con estas capacidades para la formación de un consorcio sintético conformado por inoculantes bacterianos.

Existen numerosos estudios que reportan el aislamiento de bacterias de fuentes ambientales impactadas con glifosato, donde se ha demostrado que varios aislados tienen la capacidad para degradar el glifosato, mientras que solo unos cuantos trabajos han evaluado la degradación de AMPA. El estudio realizado por Fan *et al.* (2012), donde se reportó a la cepa *B. cereus* CB4 como degradadora de glifosato, reportando una degradación del 94.47% del herbicida en cinco días a condiciones óptimas de 35°C y pH 6, observándose una acumulación de sarcosina en el medio indicando que la cepa utilizaba a la enzima C-P liasa para realizar su metabolismo.

Rossi *et al.* (2021) aislaron cinco bacterias de los géneros *Ensifer* sp. CNII15, *Acidovorax* sp. CNI26, *Agrobacterium tumefaciens* CNI28, *Novosphingobium* sp. CNI35 y *Ochrobactrum pituitosum* CNI52. Todas las cepas excepto *Ensifer* sp. CNII15 degradaron el 100% de glifosato y AMPA en un tiempo de entre 125-400 h y 30-120 h, respectivamente. En el caso de la *Ensifer* sp. CNII15 que no logró degradar el glifosato, sí fue capaz de crecer en medio suplementado con el herbicida. Por otro lado, la cepa degradó el AMPA en un tiempo aproximado de 200 h. Esto demuestra que la cepa *Ensifer* sp. CNII15, presentó tolerancia hacia el glifosato puesto que no fue capaz de metabolizarlo, pero sí logró crecimiento.

Manogaran *et al.* (2017), caracterizaron dos cepas *Burkholderia* sp. AQ5-12 y AQ5-13, las cuales toleraron hasta una concentración de 12 ml/L de Roundup® y 200 ppm de glifosato en grado analítico. Además, se determinaron las condiciones óptimas (30°C y pH 6) en las que estas cepas fueron capaces de degradar hasta un 91% de glifosato (50 ppm) en 12 h, observándose una relación directa entre la temperatura y el porcentaje de degradación puesto que a temperaturas de 20°C la degradación disminuyó a 21.27% y a 40°C hasta 12.6%, esto demuestra que la temperatura es un factor importante en la capacidad de degradación del glifosato.

Massot *et al.* (2021a) aislaron 24 cepas bacterianas de muestras de suelo provenientes de pastizales y suelos asociados a la rizósfera. De estas, 16 cepas fueron identificadas mediante el gen ARNr 16S, revelando la presencia de los géneros *Ochrobactrum*, *Pedobacter*, *Phyllobacterium* y varias especies de *Rhizobium*. Se evaluaron las cepas de *O. haematophilum* y *Rhizobium* sp., encontrando que en cultivo líquido lograron reducir en un 50% el glifosato, inicialmente presente en una concentración de 50 mg/L. En un ensayo de microcosmos con suelo cultivado con *Lotus corniculatus*, la concentración de glifosato fue reducida en un 97.4% por la cepa *O. haematophilum* y en un 58.7% *Rhizobium* sp.

Por otro lado, se ha realizado experimentos en columnas verticales que simulan los perfiles del suelo tomando horizontes de 0-10, 10-20 y 20-30 cm de profundidad, para así estudiar el desplazamiento del glifosato y a que niveles se encuentra más disponible para ser biodegradado por la microbiota nativa; al mismo tiempo se estudió si la incorporación de la cepa *Ochrobactrum anthropi* GPK 3 aumentó la degradación de glifosato. Los resultados de la investigación mostraron un aumento en la degradación con la incorporación de esta cepa, observándose una reducción del 42% (21 mg/kg de suelo) en el horizonte más soluble del suelo (0-10 cm) y una degradación del 14-18% entre las capas 10-20 cm, el resto del glifosato (6-8%) se desplazó a la capa de 20-30 cm donde la biodegradación se ve reducida o es ausente (Shushkova *et al.*, 2010).

Los estudios de biodegradación de glifosato se han enfocado en cepas individuales, por lo que el estudio en consorcios o cultivos mixtos son escasos. Góngora-Echeverría *et al.* (2020) evaluaron un consorcio microbiano y como cepas en monocultivo aisladas para degradar cinco plaguicidas que son usados comúnmente en Yucatán, México, con el objetivo de tratar efluentes agrícolas en condiciones reales. De los plaguicidas analizados, el glifosato, la atrazina y el carbofurano se degradaron en más del 90% utilizando un consorcio microbiano, siendo *P. nitroreducens* la más abundante. A nivel de monocultivos, *Ochrobactrum* sp. fue la mejor con respecto a la degradación de atrazina y glifosato (Góngora-Echeverría *et al.*, 2020). Hindersah *et al.* (2021) utilizaron un consorcio formado por *Stenotrophomonas maltophilia* MHFENV 20, *Bacillus subtilis* FX4, *B. subtilis* IP18, *Lysinibacillus* sp. BNPK-15, *Staphylococcus* sp. InS-021-1, *Stenotrophomonas* sp. DIB76BC2 y otras bacterias no cultivables, donde determinaron que la concentración de C-N-P afectaron la degradación de glifosato; asimismo, encontraron que la inoculación del consorcio en plantas de maíz creciendo en suelo contaminado con glifosato mejoraron el peso seco y la toma de N y P a las 4 semanas.

Los estudios sobre cepas bacterianas para la degradación de glifosato y AMPA principalmente se han enfocado en caracterizar la capacidad de degradación, por lo que estudios donde se realice la caracterización de los genomas de estas bacterias son relativamente pocos. Genes que codifican para las enzimas C-P liasa, glifosato oxidoreductasa y glicina oxidasa, en los cuales se hace secuenciado el genoma completo de las cepas *Enterobacter* sp. Bisph1 y *Achromobacter insolitus* KG1, donde se observó la presencia de los cistrones que conforman a la proteína C-P liasa, existiendo una ligera mutación en el operón de la cepa *Enterobacter* sp. Bisph1 puesto que se encontraba conformado por sólo 8 cistrones en vez de 14 como se ha reportado (Sergey V. *et al.*, 2020; Massot *et al.*, 2021; Ouafa *et al.*, 2022)

2.5.4. Estudios de Bacterias Degradadoras de Glifosato en México

En México son escasos los estudios donde se han aislado bacterias degradadoras de glifosato o AMPA y se ha evaluado su capacidad para metabolizar estos contaminantes. Entre las cepas que se han descrito, Peñaloza-Vázquez *et al.* (1995) reportaron la capacidad de la cepa *Pseudomonas pseudomallei* 22 para degradar el 50% del glifosato inicial (170 mg/L) en un periodo de 40 h, esta cepa se aisló a partir de 44 cepas en suelo agrícola. Asimismo, se ha cuantificado mediante HPLC, la capacidad de degradación de cepas del género *Microbacterium* y *Janthinobacterium*, reportando una reducción del 87% y una tasa volumétrica de eliminación de 11.25 mg de glifosato/L (Santoyo-Tepole *et al.*, 2020). Otro estudio realizado en Guasave, Sinaloa, identificó diversas cepas del género *Bacillus* sp. en cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.), maíz (*Zea mays*) y trigo (*Triticum*), donde estas cepas presentaron tolerancia al glifosato, carbofurán, permetrina y clorpirifós en concentraciones de 200, 5000 y 10,000 ppm. Los resultados indicaron que, a 5000 ppm, 16 de los 24 aislados mostraron tolerancia hacia todos los plaguicidas, y a 10,000 ppm, 11 de los 24 aislados fueron tolerantes a solo tres de los plaguicidas, ya que no lograron crecer a altas concentraciones de permetrina (Cota-Álvarez, 2021). Ortiz-Pérez *et al.* (2019) aislaron y caracterizaron bacterias de muestras de suelo agrícola de Tamaulipas, observando la presencia de cepas de *Bacillus* sp., *Microbacterium* sp. y *Bordetella* sp. con la capacidad de crecer en presencia de glifosato a una concentración de 200 ppm.

Por otro lado, se ha descrito otra vía donde las bacterias pueden reducir los niveles de glifosato que implica la transformación de este compuesto a polifosfato intracelular, lo cual se observó en una cepa de *B. cereus*, aislada de campos de cultivo de naranja contaminados con glifosato. Se determinó que la bacteria presentó un rendimiento de producción de polifosfato de 4 mg/L, describiendo que este microorganismo tiene la capacidad de transformar la mitad de la concentración inicial de glifosato en un periodo de 279 h (Acosta-Cortés *et al.*, 2019).

En nuestro grupo de trabajo se logró el aislamiento de 43 cepas a partir de enriquecimiento de glifosato, incluyendo los géneros de *Enterobacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Klebsiella* y *Serratia* aisladas de sitios agrícolas contaminados con glifosato, siendo estas cepas capaces de crecer a concentraciones de glifosato hasta 15,000 ppm (mg/L). Asimismo, también se aislaron 21 cepas pertenecientes a los géneros *Bacillus*, *Leclercia*, *Cronobacter*, *Cupriavidus*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas* y *Lysinibacillus*, las cuales se aislaron a partir de enriquecimientos suplementados con AMPA en concentraciones de hasta 500 ppm (Figuroa-Iriarte, 2023; Valdés-Machado, 2023, datos no publicados).

3. HIPÓTESIS

Las cepas bacterianas en estudio (*Pseudomonas putida* CRA-04, *Priestia megaterium* FA-05, *Cronobacter sakazakii* FA-08, *Stenotrophomonas maltophilia* CRA-10 y *Pantoea dispersa* F-22) muestran capacidad de degradar el glifosato y el AMPA en condiciones *in vitro* y en microcosmos de suelo, asociado con la presencia de los genes de degradación como *phn*, *gox* y *thiO*.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar el potencial biorremediador de cepas bacterianas aisladas de suelo agrícola de Sinaloa, mediante la caracterización genómica y funcional de las cepas y de su capacidad para degradar glifosato y AMPA.

4.2. Objetivos Específicos

1. Identificar los genes asociados a las vías de degradación de glifosato y AMPA, así como evaluar la presencia de genes de resistencia a antibióticos, degradación de otros agroquímicos y asociados a propiedades promotoras de crecimiento en los genomas de las bacterias degradadoras de glifosato y AMPA.
2. Evaluar la degradación de glifosato y AMPA en las cepas bacterianas degradadoras en condiciones de monocultivo y cultivos mixtos.
3. Evaluar la degradación de glifosato y AMPA en las cepas bacterianas en un modelo de microcosmos de suelo.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Obtención de Cepas y Condiciones de Cultivo

Las bacterias utilizadas en este estudio fueron aisladas de suelos agrícolas de Fundación Produce Sinaloa (FPS, cepas que su nombre inicia con F) y un Agrícola en Costa Rica (CR, cepas que su nombre inicia con C), las cuales se caracterizaron a nivel bioquímico e identificaron por secuenciación del gen ARNr 16S en estudios previos del grupo de trabajo (Figueroa-Iriarte, 2023; Valdés-Machado, 2023, datos no publicados). Las cepas que se seleccionaron para este estudio fueron obtenidas de enriquecimientos de glifosato para la cepa *Pantoea dispersa* F-22, mientras que las demás cepas se obtuvieron de enriquecimientos con AMPA y se identificaron como *Priestia megaterium*, *Cronobacter sakazakii*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Pseudomonas putida* con las codificaciones FA-05, FA-08, CRA-10 y CRA-04, respectivamente.

La reactivación de las cepas a partir de criopreservados en glicerol al 20% y almacenados a -80°C se realizó en medio LB Miller sólido suplementado con una concentración final de 1 g/L (1000 partes por millón, o ppm) de glifosato, excepto para *P. megaterium* que se activó en LB Miller suplementado a una concentración final de 100 mg/L (100 ppm) de AMPA, y colocados en incubación a 28°C por 24 h. Para los cultivos líquidos, se sembró a partir de colonia en medio líquido LB Miller suplementado con glifosato o AMPA según corresponda. Para los ensayos de cinéticas de crecimiento se utilizó el medio MSM2 según Manogaran *et al.* (2017) con modificaciones (preparación de 1 L): 100 mL de 1 M Tris-HCl buffer (pH 7.2), glucosa (10 g/L), NaCl (0.5 g/L), KCl (0.5 g/L), MgSO₄·7H₂O (0.2 g/L), (NH₄)₂SO₄ (2 g/L), y CaCl₂ (0.01 g/L). Para los ensayos de degradación de glifosato o AMPA en cultivo líquido, como suplemento se le adicionó 1 mL de una solución de tiamina/biotina (40 mg/50 mg en 100 mL) por cada 1 L de medio MSM2. El glifosato y el AMPA se suplementaron en el medio MSM2 como fuente de fósforo. El glifosato que se utilizó fue de grado comercial marca FAENA® FORTE 360, que contiene 363 g del compuesto activo sal de potasio de N-(fosfometil)-glicina; en el caso del AMPA se utilizó grado reactivo de la marca Sigma y se preparó una solución de trabajo de 50 mg/mL de AMPA. El glifosato comercial y la solución de 50 mg/mL de AMPA se esterilizaron por filtración con un

acrodisco estéril de acetato de celulosa de 0.2 micras y se almacenaron a 4°C y -20°C, respectivamente.

5.2. Extracción de ADN Genómico

La extracción de ADN genómico se realizó siguiendo el método de Wilson *et al.* (2001) con pequeñas modificaciones. Se inocularon 5 ml de medio de cultivo con las cepas FA-05, FA-08, F-22, CRA-10 y CRA-04 y se incubaron a 28°C a 150 rpm por 24 h. Del cultivo fresco se tomaron alícuotas de 1.5 mL, se centrifugaron durante 5 minutos a 10000 rpm y se desechó el sobrenadante. La pastilla bacteriana se resuspendió en 562 µL de buffer TE (10 mM Tris-HCl pH 8.0 y 1 mM EDTA) pipeteando varias veces, se agregaron 5 µL de lisozima (25 mg/mL) y se incubó por 1 h a 37°C en un termomezclador (Thermomixer, Eppendorf). Después de la incubación, se añadieron 30 µL de SDS al 10% (Sigma-Aldrich, EUA), se homogenizó la muestra en un vortex (Scientific Industries) y se adicionaron 3 µL de proteinasa K (20 mg/mL) (Sigma-Aldrich, EUA) para posteriormente incubar por 1 h a 37 °C en el termomezclador. Terminada la incubación, se añadieron 100 µL de NaCl 5 M y se mezcló por inversión. Una vez mezclada la muestra se adicionaron 80 µL de una solución 10% CTAB en 0.7 M de NaCl, se mezcló utilizando el vortex y se incubó por 10 minutos a 65°C en el termomezclador. Finalizada la incubación, se agregó un volumen aproximado entre 0.7 a 0.8 mL de cloroformo:alcohol isoamílico (proporción 24:1 (v/v)) en el termomezclador, se homogenizó la muestra en agitador vortex y se centrifugó a 13,000 rpm por 10 minutos a 15°C. Terminada la centrifugación, se transfirió la fase acuosa a un microtubo nuevo de 1.5 mL, se le adicionaron 2 µL de RNAsa (4 mg/mL) (Sigma-Aldrich, EUA) y se incubó a 37°C por 30 minutos en un termomezclador. Terminada la incubación se repitió el proceso de extracción con cloroformo:alcohol isoamílico (proporción 24:1 (v/v)) en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. Una vez recuperada la fase acuosa, el ADN se precipitó con dos volúmenes de etanol absoluto (Sigma-Aldrich, EUA) y 1/10 de volumen de Acetato de sodio 3 M pH 5.2 y se incubó a -20°C por 24 h. Posteriormente, la muestra se centrifugó a 13,000 rpm por 10 minutos, se descartó el sobrenadante con ayuda de micropipeta, se adicionó 1 mL de etanol al 70%, se mezcló por inversión y se centrifugó a 13,000 rpm por 5 minutos. Terminada la centrifugación,

el sobrenadante se removió cuidadosamente y el ADN se dejó secar a temperatura ambiente por 10 minutos. El ADN se resuspendió en 100 μ L de agua destilada estéril en el caso de las muestras que se enviaron a CINVESTAV (Irapuato, México), o en 50 μ L de buffer TE (10 mM Tris-HCl pH 8.0 y 1 mM EDTA) para aquellas muestras enviadas a PlasmidSaurus (Oregon, E.U.A). La integridad del ADN se verificó por electroforesis en un gel de agarosa al 1% en TAE 1X con las condiciones de corrida de 70 V, 250 mA por 60 minutos. Por otro lado, la concentración y la pureza del ADN genómico se midió por espectrofotometría (Qiaport, Qiagen) considerando como óptimos los valores de pureza de la relación de absorbancia a 260 nm/280 nm entre 1.8-2.0 y de 260 nm/230 nm entre 2.0-2.2.

5.3. Secuenciación y Ensamble de los Genomas Bacterianos

Para la secuenciación, se enviaron 3 μ g del ADN genómico extraído de las cepas: *P. megaterium* FA-05, *C. sakazakii* FA-08, *P. dispersa* F-22 y *S. maltophilia* CRA-10 por servicio al Laboratorio de Servicios Genómicos en LANGEBIO, CINVESTAV, utilizando el sistema Illumina MiSeq en un formato de 2 x 300 nt. Las lecturas crudas obtenidas se visualizaron con la herramienta FastQC para evaluar la calidad. Posteriormente, se utilizó la herramienta Trimmomatic para eliminar adaptadores con la función Illuminaclip, también se utilizó la siguiente configuración de calidad MINLEN: 20, SLIDINGWINDOW: 4:30, LEADING: 3 y TRAILING: 3, para garantizar lecturas de alta calidad. Las lecturas filtradas se ensamblaron como genoma de novo utilizando SPAdes (Prjibelski *et al.*, 2020), a5-miseq (Coli *et al.*, 2015) y Unicycler (Wick *et al.*, 2017).

En el caso de las cepas *P. megaterium* FA-05 y *P. putida* CRA-04, se enviaron 20 μ L de ADN genómico a una concentración de 50 ng/ μ L, el cual previamente se cuantificó en un equipo Qubit (Invitrogen), a Plasmidsaurus para el servicio de secuenciación utilizando secuenciación híbrida de lecturas largas con la tecnología de Oxford Nanopore y lecturas cortas de Illumina 2 x 150 nt. El genoma de la cepa de *P. putida* CRA-04 se obtuvo de acuerdo con el flujo de trabajo de ensamble realizado por Plasmidsaurus. En el caso de *P. megaterium* FA-05 se utilizaron las secuencias largas obtenidas por la tecnología de Nanopore y las lecturas filtradas 2 x 300 nt de Illumina previamente filtradas. Con estas lecturas se realizó un ensamble *de novo* utilizando la herramienta Unicycler

(Wick *et al.*, 2017) para realizar un ensamble híbrido. La calidad de los ensambles de los genomas de las 5 cepas se evaluó con QUAST (Mikheenko *et al.*, 2018), y dependiendo de la cepa se seleccionó el mejor ensamble de acuerdo con los parámetros de calidad.

5.4. Anotación de Genomas

Los contigs resultantes de todos los ensambles se anotaron con Bakta (Schwengers *et al.*, 2021), RAST (Aziz *et al.*, 2008), KEGG (Kanehisa, 2000; Kanehisa, 2019; Kanehisa *et al.*, 2023) y por comparación con BLAST en el NCBI. Para identificar los genes relacionados con factores de virulencia y genes de resistencia a antibióticos se utilizaron las bases de datos Virulence Factor Database (VFDB, <http://www.mgc.ac.cn/VFs/>), ResFinder 4.1 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>), AMRFinderPlus (Feldgarden *et al.*, 2021) y CARD (Alcock *et al.*, 2023). Por otro lado, se realizó una búsqueda en las bases de datos de NCBI (NCBI, 1998) y EMBL (Kanz, 2004) de las secuencias de genes asociados a las vías de degradación de glifosato reportadas (*phn*, *gox*, *thiO* y *goW*), vías alternas posibles de degradación (*phn A*, *B*, *W*, *X*, *Y* y *Z*) y genes relacionados con la tolerancia hacia glifosato (*aroA*, *gat* y *glpA*) (Cuadro 2). Con estas secuencias se realizó una búsqueda por comparación con el programa ABRicate (Seeman, 2020) en el genoma de las cepas de estudio para identificar la presencia de genes relacionados con la degradación de agroquímicos. Para la identificación de genes asociados a propiedades promotoras se utilizó la herramienta ABRicate (Cuadro 3) (Seeman, 2020) y la base de datos Bacterial antiSMASH (Medema *et al.*, 2011).

Cuadro 2. Genes codificantes de enzimas relacionadas a la degradación o tolerancia de glifosato y AMPA.

Gen	Enzima	No. De accesoión
<i>glpA</i>	Fosfonotransferasa	X74325
<i>aroA</i>	EPSPS clase II	WP_151325495.1
<i>gat</i>	Glifosato N-acetiltransferasa	HV803536.1
<i>gat</i>		FW569108.1
<i>gat</i>		FW569678.1
<i>gatN</i>		FW505478.1
<i>thiO</i>	Glicina oxidasa	AEW04802.1
<i>gox</i>	Glifosato oxidorreductasa	ACZ58378.1
<i>goW</i>	Glicina oxidasa homóloga	OM867748
<i>phnAB</i>	2-aminoetil fosfatasa	L49465.1
<i>phnWX₁X₂</i>	Fosfonoacetato hidrolasa	AJ437001.1
<i>phn (C-P)</i>	C-P liasa	LR883000.1

Cuadro 3. Genes codificantes de propiedades promotoras de crecimiento en plantas. AIA, ácido indolacético.

Propiedad promotora	Gen	No. De accesoión
Síntesis de AIA	<i>iaaM</i>	U04358
	<i>iaaH</i>	
Síntesis de AIA	<i>iaaC</i>	AY608698
Síntesis de AIA	<i>Ipdc</i>	AB052841
Síntesis de AIA	<i>atrA</i>	AY850387
	<i>atrB</i>	
	<i>atrC</i>	
Nodulación	<i>nodB</i>	OP297401
Metabolismo de nitrógeno	<i>nifB</i>	M13688
	<i>frxA</i>	
Nitrificación	<i>nifH</i>	HQ398104
Nitrificación	<i>nif (K, E, N, X, W, Z, V, S)</i>	AF119361
Metabolismo de nitrógeno	<i>ferr (A, B y I)</i>	
Nitrificación <i>Enterobacter</i> sp. R4-368	<i>nif (J, H, D, K, T, Y, E, N, X, U, S, V, W, Z, M, F, L, A, B, Q)</i>	KC989924
Sideróforos	<i>IucA/IucC</i>	CP045814
Surfactina	<i>srfAA</i>	OM830959
Surfactina	<i>srfA2</i>	
Enterobactina	<i>entB</i>	MH818545

5.5. Determinación de UFC/mL

Se determinó la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC)/mL a una densidad óptica (DO) a 600 nm de 1.5 en los cultivos de las cepas en estudio para determinar la cantidad de inóculo inicial en los ensayos de degradación de glifosato y AMPA. Para ello, las cepas se inocularon en 20 mL de medio LB Miller y se incubaron a una temperatura de 28°C durante 24 h con una agitación de 200 rpm. Posteriormente, el cultivo fresco se centrifugó a 6,000 rpm durante 10 minutos a una temperatura de 4°C, se descartó el sobrenadante para obtener la pastilla bacteriana. Esta se lavó con 15 mL de solución salina al 0.8% NaCl dos veces, centrifugando en las mismas condiciones mencionadas anteriormente. El cultivo lavado se ajustó a una DO600 de 1.5 y se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-10} , donde se plaquearon 100 μ L de las diluciones 10^{-8} , 10^{-9} y 10^{-10} en medio LB Miller por triplicado. Las cajas se dejaron a 28°C por 48 h y se contaron las colonias resultantes, considerando para el conteo aquellas cajas entre 30 y 300 colonias, y se realizó el cálculo de las UFC/mL con la siguiente fórmula (Ramirez *et al.*, 2017):

$$\text{UFC/mL} = (\# \text{ colonias} * \text{factor de dilución}) / \text{mL de muestra sembrada}$$

5.6. Ensayo de Degradación de Glifosato en Cultivo *in vitro*.

Los ensayos de degradación de glifosato se realizaron en dos partes: ensayo de degradación utilizando las cepas FPS, y otro ensayo con las cepas CR. Para el ensayo con las cepas FPS, las cepas FA-08 y F-22 se crecieron en 25 ml de medio LB Miller suplementado con 30 mg/L de glifosato y la cepa FA-05 en 25 ml de medio LB Miller suplementado a una concentración de 30 mg/L de AMPA, incubándose a 28°C por 24 h a 200 rpm. Los cultivos frescos se transfirieron a tubos cónicos de 50 mL y se centrifugaron a 6,000 rpm por 10 minutos a 4°C. El sobrenadante se desechó y se realizaron 3 lavados con 15 ml de solución salina al 0.8% NaCl, donde cada lavado se realizó resuspendiendo el botón celular en un vortex (Scientific Industries), se centrifugó a 6000 rpm por 10 minutos a 4°C y se eliminó el sobrenadante en cada lavado. Finalmente, la pastilla bacteriana lavada se resuspendió en solución salina al 0.8% estéril y se ajustó a una DO600 de 1.5

(10^{-13} UFC/mL), utilizando la solución salina como blanco. Como tratamientos, los monocultivos se realizaron para las cepas FA-08, F-22 y FA-05, mientras que los cultivos mixtos fueron dos mezclas: F-22 + FA-08, y F-22 + FA-05. Para la inoculación de los monocultivos se agregaron 1 ml del cultivo ajustado de la cepa y 1 mL de solución salina al 0.8% NaCl, mientras que para los cultivos mixtos se agregaron 1 ml del cultivo ajustado de cada cepa, todo esto en 50 mL de medio MSM2 contenido en matraces de 250 mL de polipropileno y suplementado con glifosato a una concentración final de 30 mg/L y con biotina/tiamina como se describió en la sección 5.1.

Para el ensayo con las cepas CR, las cepas CRA-04 y CRA-10 se crecieron en 25 ml de medio MSM2 líquido suplementado con 30 mg/L de glifosato, incubados a 28°C por 24 h a 200 rpm. La preparación del inóculo lavado y ajustado siguió el mismo protocolo descrito para las cepas FPS. Como tratamientos, se consideraron las cepas CRA-04 y CRA-10 como monocultivo, y para el cultivo mixto se consideró una mezcla de las dos cepas. La inoculación de este ensayo siguió las mismas especificaciones descritas previamente para las cepas FPS.

De todos los cultivos una vez inoculados se tomó 1 mL de cada tratamiento para determinar la DO600 inicial y 1 mL de muestra para la determinación de glifosato y AMPA en el tiempo cero (T0). La muestra de cultivo para la cuantificación se centrifugó a 10,000 rpm por 10 minutos a 4°C, se transfirió el sobrenadante a un microtubo nuevo de 1.5 mL y se almacenó a -20°C protegido de la luz con aluminio hasta su análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS-MS) en el Laboratorio de Plaguicidas. Posteriormente, los cultivos se incubaron en un agitador orbital a 28°C por 6 días a 200 rpm, se determinó la DO600 y se tomaron muestras para la cuantificación a los 3 y 6 días de cultivo como se describió previamente para el T0. El experimento se llevó a cabo como un diseño de dos factores completamente al azar con tres réplicas por tratamiento, tomando como factor el tiempo (T0, T3 y T6) y el cultivo bacteriano (monocultivo y cultivos mixtos) y se realizó una comparación de medias utilizando las pruebas de Tukey ($P < 0.05$) en el programa Minitab 19.

5.7. Ensayo de Degradación de AMPA en Cultivo *in vitro*.

Las 5 cepas bacterianas en estudio se sembraron en 25 mL de medio LB Miller líquido suplementado con AMPA a una concentración final de 30 mg/L y se incubaron a 28°C por 24 h a

200 rpm. El cultivo fresco se centrifugó en un tubo cónico de 50 mL a 6,000 rpm por 5 minutos a 4°C. El sobrenadante se desechó y se realizaron 3 lavados con 20 mL de solución salina al 0.8% NaCl, donde en cada lavado se resuspendió el botón celular en un vortex (Scientific Industries), se centrifugó a 6000 rpm 5 minutos a 4°C y se eliminó el sobrenadante. La pastilla bacteriana lavada se resuspendió en solución salina al 0.8% NaCl y se ajustó a una DO600 nm de 1.5 utilizando la solución salina como blanco. Para este ensayo, los tratamientos consistieron en monocultivos de cada una de las 5 cepas. Para ello, se inoculó 1 mL del cultivo lavado y ajustado en 50 mL de medio MSM2 contenido en matraces de 250 mL de polipropileno y suplementado con AMPA a una concentración final de 30 mg/L y con biotina/tiamina como se describió en la sección 5.1.

Todos los cultivos una vez inoculados, se tomó 1 mL de cada tratamiento para determinar la DO600 inicial y 1 mL de muestra para la determinación de AMPA en el tiempo cero (T0). La muestra de cultivo para la cuantificación se centrifugó a 10,000 rpm por 10 minutos a 4°C, se transfirió el sobrenadante a un microtubo nuevo de 1.5 mL y se almacenó a -20°C protegido de la luz con aluminio hasta su análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS-MS) en el Laboratorio de Plaguicidas. Posteriormente, los cultivos se incubaron en un agitador orbital a 28°C por 6 días a 200 rpm, se determinó la DO600 y se tomaron muestras para cuantificación a los 3 y 6 días de cultivo como se describió previamente para el T0. El experimento se llevó a cabo como un diseño de dos factores completamente al azar con tres réplicas por tratamiento, tomando como factor el tiempo (T0, T3 y T6) y el cultivo bacteriano (monocultivos) y se realizó una comparación de medias utilizando las pruebas de Tukey ($P < 0.05$) en el programa Minitab 19.

5.8. Ensayos de Degradación de Glifosato en un Modelo de Microcosmos de Suelo

Para realizar el ensayo de microcosmos se colectaron de 3 kg de suelo a una profundidad de hasta 30 cm en una zona agrícola libre de glifosato localizada en los alrededores de Culiacancito, que se colocaron en una bolsa de plástico, se trasladaron al laboratorio BIMOGEN y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta el montaje del ensayo. La muestra de suelo se limpió de rocas y restos vegetales, y se dejó secando a la luz solar. La muestra de suelo seca se trituró mecánicamente con

ayuda de un martillo y se tamizó para lograr un tamaño de partícula <2 mm. Una vez tamizado el suelo, se tomó una muestra de 5 g de suelo tamizado para realizar la cuantificación de glifosato y AMPA por UPLC-MS/MS y 1 kg para determinar materia orgánica por servicio en MASTERLAB. Para el montaje del microcosmos, se agregaron 15 g del suelo seco a 48 tubos cónicos de 50 mL. Estos tubos con suelo se esterilizaron por autoclave por 40 minutos a 121°C, y se dejaron a temperatura ambiente. Este proceso de esterilización se realizó por dos veces para garantizar la esterilidad del suelo. Por otro lado, para este ensayo se seleccionaron solamente las cepas F-22, CRA-04 y CRA-10, las cuales se sembraron en 50 mL de medio LB Miller suplementado con 1 g/L de glifosato, se incubaron a 28°C a 200 rpm por 24 h. El cultivo fresco se centrifugó a 6,000 rpm por 10 minutos para obtener la pastilla bacteriana, la cual se lavó tres veces con 15 mL de solución salina 0.8% y se ajustó la DO600 en 1.0.

Para la preparación del suelo, a cada tubo con suelo estéril se le agregaron 11 mL de agua destilada estéril con glifosato (el agua se suplementó a una concentración final de 75 mg/L de glifosato) y se homogenizó en un vortex (Scientific Industries) hasta obtener una mezcla homogénea de suelo. Los tratamientos se enlistan en el Cuadro 5 y se realizaron por triplicado. Para la inoculación, a cada uno de los tubos se les adicionaron 1.5 ml del inóculo bacteriano y 1.5 mL de solución salina al 0.8% NaCl para los monocultivos y 1.5 ml de cada cepa para los cultivos mixtos. La concentración teórica de los cultivos inoculados fue de 30 mg/L de glifosato debido al volumen añadido del suelo y los inóculos. La humedad relativa fue de aproximadamente de 80%, la cual se calculó utilizando la fórmula:

$$\% \text{ humedad relativa} = \frac{(\text{Peso suelo hidratado} - \text{Peso suelo seco})}{\text{Peso suelo seco}} * 100$$

Cuadro 4. Diseño experimental de los tratamientos para el ensayo de microcosmos de suelo

Trat. #	Especificación	Inóculo	Total de microcosmos
1	Control (suelo + glifosato)	3 mL solución salina	15
2	suelo + glifosato + F-22	1.5 mL F-22 + 1.5 mL solución salina	15
3	suelo + glifosato + CRA-04 y CRA-10	1.5 mL CRA-04 + 1.5 mL CRA-10	15

Los microcosmos se mantuvieron a 28°C en oscuridad por 60 días en una cámara bioclimática (Thermo Scientific™) y se adicionó medio MSM2 estéril una vez por semana para mantener la humedad relativa. Para la cuantificación de glifosato y AMPA, de cada tratamiento se tomaron 3 muestras de manera aleatoria a los 0, 15, 30, 45 y 60 días. El experimento se llevó a cabo como un diseño de dos factores completamente al azar con tres réplicas por tratamiento, tomando como factor el tiempo (T0, T3 y T6) y el cultivo bacteriano (control, monocultivo o cultivo mixto) y se realizó una comparación de medias utilizando las pruebas de Tukey ($P < 0.05$) en el programa Minitab19. Las muestras se almacenaron a -20°C en oscuridad hasta su análisis en el laboratorio de Plaguicidas en CIAD.

5.9. Cuantificación de Glifosato y AMPA por UPLC-MS/MS

La cuantificación de las muestras de medio MSM2, se llevó a cabo siguiendo la metodología PARA-PLA-006 “Determinación de glifosato, ácido aminometilfosfónico (AMPA) y glufosinato en agua mediante la derivatización con FMOC-Cl y cromatografía de líquidos masas/masas (UPLC-MS/MS)”. Las muestras descongeladas se homogenizaron con un vortex y se diluyeron en buffer de fosfatos ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0.1 M pH 9) en una relación de 1:200 (v/v). Una vez diluida la muestra, se le agregó de 1 mL de FMOC-Cl en acetonitrilo (1 mg/mL) en una relación 1:1 (v/v), se homogenizó por vortex y se mantuvo en baño seco a 60°C por 1 h, agitándose en vortex cada 15 minutos. Posteriormente, la reacción de derivatización se detuvo con 130 μL de ácido fosfórico al 2% y se agregaron 5 mL de CH_2Cl_2 para extraer el glifosato derivatizado, las fases se separaron mediante centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos. Se recuperó la fase acuosa y se filtró a través de un acrodisco de jeringa de nylon de 0.22 μm (ThermoFisher), recuperando la solución filtrada en un vial de cristal de 2 mL con tapa preperforada. La solución recuperada se inyectó en el sistema UPLC-ESI-MS/MS, compuesto por un cromatógrafo líquido de alto rendimiento (UPLC) (Acquity, Waters) y un espectrómetro de masas en tándem con sonda ESI (Xevo TQS). Las condiciones del UPLC-MS/MS fueron las siguientes: modo de ionización, ESI (+); voltaje del capilar, 3.21 kV; temperatura de desolvatación, 400°C; flujo del gas de desolvatación, 650 L/h; temperatura de la fuente, 150°C; flujo del gas del cono, 300 L/h; flujo del gas de colisión, 0.15

mL/min. Las muestras se inyectaron automáticamente a través de un sistema Sample Manager-FTN Acquity de Waters a un UPLC Acquity con columna Acquity UPLC BEH Phenyl 1.7 μ m, 2.1 x 100 mm, en un volumen de 10 μ L. Se utilizó como fase móvil A formiato de amino 5mM, pH 3.0 y como fase móvil B Acetonitrilo + 0.1% de ácido fórmico a manera de gradiente. La identificación y cuantificación se llevó a cabo utilizando la sonda ESI en un espectrofotómetro de masas Xevo TQ-S de Waters y se analizó en el programa MassLynx™. La determinación de la concentración final de los analitos se realizó mediante el cálculo de área bajo la curva. La curva de calibración se realizó con un blanco y un estándar (mezcla de glifosato (Accustandard Inc.), AMPA (Sigma-Aldrich™) y glufosinato (Sigma-Aldrich™) a una concentración de 50 ppb (León-Medina, 2023).

Para la determinación de glifosato en las muestras de microcosmos se disolvió 1 g de suelo húmedo en 15 mL de buffer de fosfatos ($\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0.1 M pH 9), esta solución se sometió a sonicación por 30 minutos para extraer todo el glifosato y AMPA presente en el suelo y se centrifugó a 6,400 rpm por 10 minutos para obtener el sobrenadante. Una vez obtenido el sobrenadante se siguió la misma metodología descrita anteriormente para los cultivos. A diferencia del análisis de las muestras de medios de cultivo, la curva de calibración de suelos se realizó con un blanco y dos estándares a una concentración de 500 y 1000 ppb (mezcla equivalente de glifosato (Accustandard Inc.), AMPA (Sigma-Aldrich) y glufosinato) (León-Medina, 2023).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Ensamble de Genomas

El ensamble de los genomas de las cepas *P. megaterium* FA-05 y *P. putida* CRA-04 presentaron una calidad final de genoma cerrado, con un tamaño de cromosoma de 5,346,303 pb (%GC=37.88) y 5,914,547 pb (%GC=61.7), respectivamente (Figura 5A y 5B, Cuadro 5). Para el caso de la cepa *P. megaterium* FA-05, se encontraron tres plásmidos: pFA-05_1 (124,067 pb), pFA-05_2 (30,162 pb) y pFA-05_3 (6,347 pb) (Figura 6A), presentando porcentajes de cobertura e identidad con otros genomas reportados en la base de datos de NCBI. El plásmido pFA-05_1 presentó un 38% de cobertura y 90.84% de identidad con un plásmido sin nombre reportado en la cepa *P. megaterium* H2 (NZ_CP071484); el plásmido pFA-05_2 presentó un alto porcentaje de cobertura (100%) e identidad (88.56%) con el plásmido p1_CACC119 de la cepa *P. megaterium* CACC119 (NZ_CP140266); por último, el plásmido pFA-05_3 mostró una cobertura del 57% y una identidad de 93.02% con el plásmido p8 de la cepa *P. megaterium* 2020WEIHUA_L (NZ_CP059465).

Por otro lado, las cepas *C. sakazakii* FA-08, *S. maltophilia* CRA-10 y *P. dispersa* F-22 presentaron una calidad final de ensamble de tipo draft (borrador) con tamaños de 4,293,294 pb (%GC=57.03), 4,320,704 pb (%GC=66.57) y 4,036,063 pb (%GC=57.67), respectivamente (Cuadro 5). Así mismo, se detectó la presencia de plásmidos en las cepas *C. sakazakii* FA-08 y *P. dispersa* F-22, los plásmidos se nombraron pFA-08 (49,138 pb) y pF-22 (692,292 pb), respectivamente (Figura 6C). El plásmido pFA-08 mostró una alta identidad (84.50%) y cobertura (82%) con el plásmido CSK29544_3p de la cepa *C. sakazakii* ATCC29544 (Hoeflinger y Miller, 2017). El plásmido pF-22, que presentó un tamaño considerable, se encontró que comparte un alto porcentaje de identidad (98.16%) y cobertura (92%) con el plásmido pJL.02bL de la cepa *P. dispersa* JL.02bL (NZ_CP107574), confirmando que el contig corresponde a un megaplásmido anteriormente reportado en este género bacteriano.

Cuadro 5. Características genómicas y parámetros del ensamble de genoma de las cepas en estudio.

Características^a	<i>P. megaterium</i>	<i>P. putida</i>	<i>C. sakazakii</i>	<i>S. maltophilia</i>	<i>P. dispersa</i>
Cepa	FA-05	CRA-04	FA-08	CRA-10	F-22
Calidad final	Genoma cerrado	Genoma cerrado	Draft	Draft	Draft
Lecturas crudas	277,641 (LANGEBIO)/13,708 (Nanopore)	-	1,137,793	1,725,238	923,499
Lecturas filtradas	252,019 (LANGEBIO)	-	1,040,189	1,525,366	836,425
Plataformas de secuenciación	Illumina 2 x 300 pb (LANGEBIO) + Nanopore	Illumina 2 x 150 pb + Nanopore (PlasmidSaurus)	Illumina 2 x 300 pb (LANGEBIO)	Illumina 2 x 300 pb (LANGEBIO)	Illumina 2 x 300 pb (LANGEBIO)
Ensamblador	UNICYCLER v0.5.0	Servicio PlasmidSaurus	UNICYCLER v0.5.0	UNICYCLER v0.5.0	UNICYCLER v0.5.0
Anotación	Bakta v1.8.1	Bakta v1.8.1	Annotation Genome Pipeline (AGP)	Bakta v1.8.1	Annotation Genome Pipeline (AGP)
N50 (pb)	5,346,304	rNG50(65,098)	984,210	634,410	692,292
Cromosoma (pb)	5,346,304	5,914,547	4,290,548	4,320,704	4,128,803
Plásmidos	124,067 pb (pFA-05_1) 30,162 pb (pFA-05_2) 6,387 pb (pFA-05_3)	-	49,138 pb (pFA-08)	-	692,292 (pF-22)
Contigs (No., pb)	4	1	29	38	30
Longitud total (pb)	5,506,920	3,318,311	4,290,548	4,438,969	4,821,095
Contenido de GC (%)	38	61.7	57.03	66.57	57.5
Cobertura	15x	102x	86x	161.9x	81.3x
CDS	5581	5281	3970	4002	4388
Pseudogenes (total)	27	11	35	12	37
ARNr	43	22	5	3	8
ARNt	131	76	72	71	69
ARNmt	1	1	1	1	1
CRISPR	0	0	3	0	2

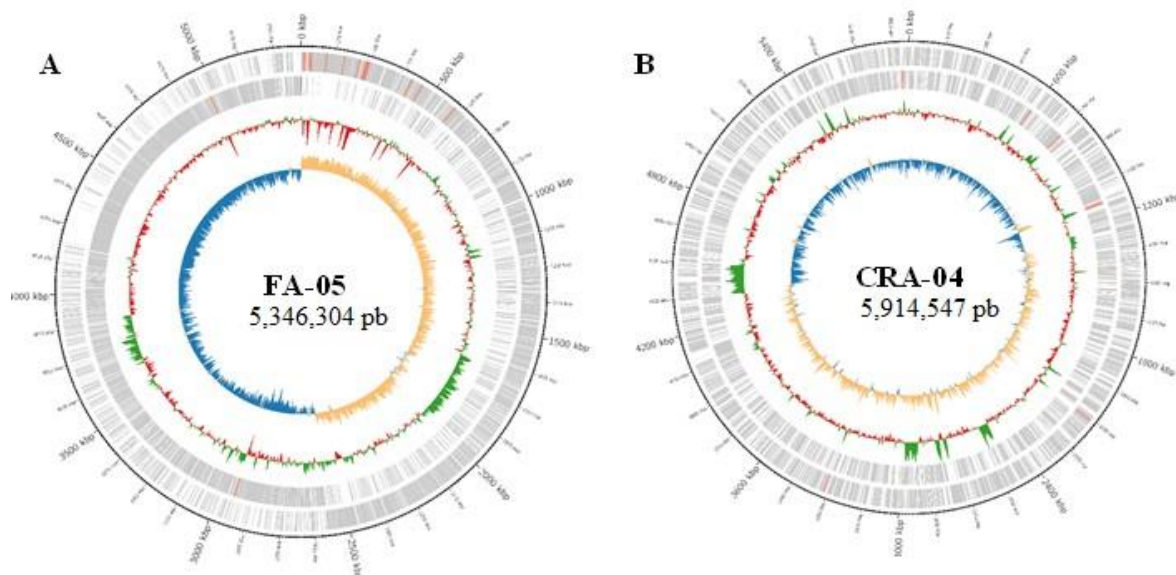


Figura 5. Representación gráfica del cromosoma circular cerrado de las cepas A) *P. megaterium* (FA-05), y B) *P. putida* (CRA-04). Los genomas no están representados a escala.

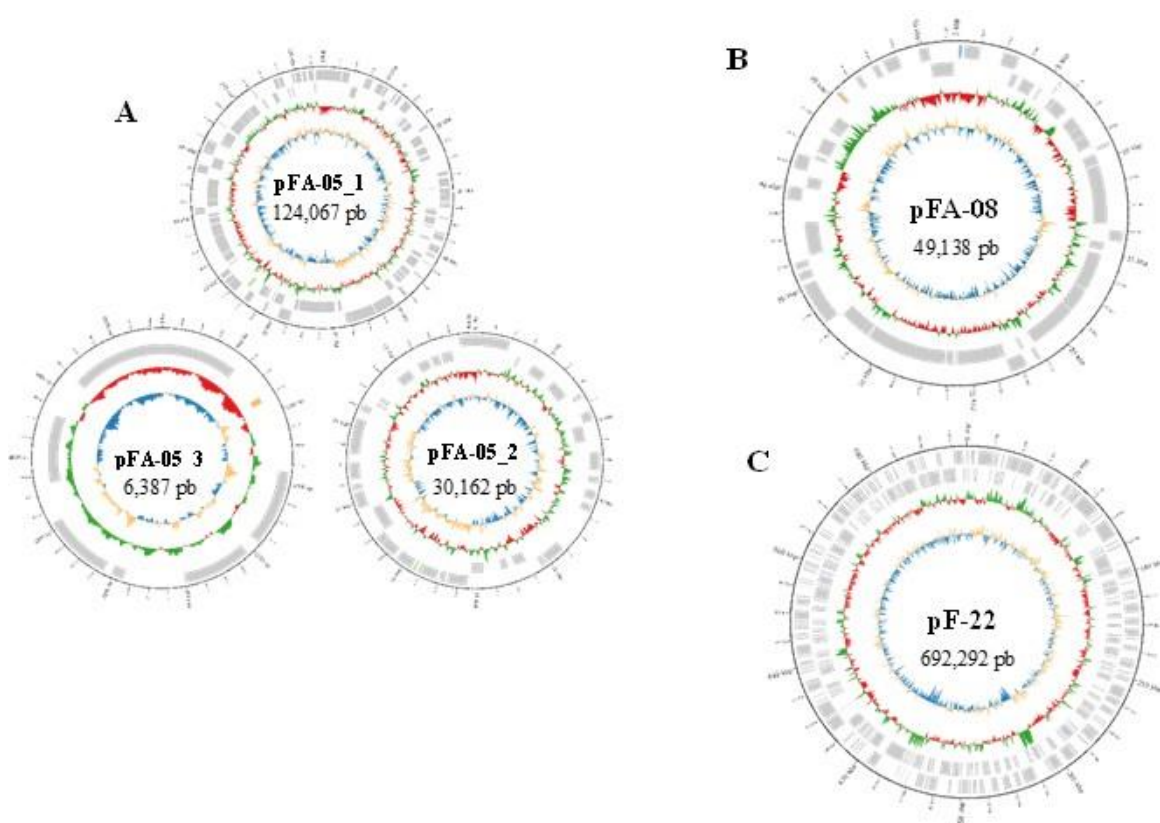


Figura 6. Representación gráfica de los plásmidos identificados en las cepas bacterianas. A) Plásmidos de *P. megaterium* (FA-05), B) Plásmido *C. sakazakii* (FA-08) y C) Plásmido *Pantoea dispersa* (F-22). Los plásmidos no están representados a escala.

6.2. Anotación de Genomas

6.2.1. Genes Asociados a la Degradación de Glifosato y AMPA

La caracterización de los genomas de las cinco cepas consistió en la búsqueda de los genes involucrados en las vías de degradación de glifosato y AMPA para relacionar dicha característica genómica con la capacidad de las bacterias para degradar estos compuestos. Sin embargo, en la mayoría de las cepas no fue posible encontrar el operón *phn* completo, sino que se encontraron los genes *phn* dispersos en el cromosoma, a excepción de la cepa *P. dispersa* F-22 donde se encontró el operón completo. En la cepa *C. sakazakii* FA-08 se encontró solamente el cistron *phnH*, el cual es una subunidad del complejo C-P liasa permitiendo el ensamble del complejo (Jochimsen *et al.*, 2011). En la cepa *S. maltophilia* CRA-10 se detectaron dos cistrones pertenecientes al operón *phn*, aunque se encontraron en posiciones distantes en el genoma, donde el gen *phnD* (STENO_003131) se encontró en la posición 334,234...335,088, y el *phnP* (BIKONL_15655) en la posición 5,796,735...5,796,735. Estos dos genes al pertenecer a un operón deberían encontrarse juntos en una localización genómica, no obstante, se ha reportado la presencia de genes *phn* en distintas localizaciones en genomas de *Rhizobium sp.* (Massot *et al.*, 2021b). Por otro lado, en la cepa *P. putida* CRA-04 se identificaron más cistrones del operón *phn*, pero solo aquellos genes relacionados al transporte de fosfatos (Lee-Bazaldúa, 2019), como *phnE1* (BIKONL_000310), *phnE2* (BIKONL_000311), *phnC* (BIKONL_000312), y *phnD* (BIKONL_000313). En el caso de la cepa *P. dispersa* F-22 se identificaron 14 cistrones que componen al operón (*phnC-P*), indicando que, de acuerdo con sus características genómicas, esta bacteria tiene un mayor potencial para degradar tanto glifosato como AMPA, ya que se ha observado a cepas que poseen estos mismos cistrones como *O. haematophilum* P6BS con la capacidad de degradar hasta un 97% del glifosato inicial (50 mg/L); asimismo se ha demostrado que variaciones en la cantidad o posición de los cistrones no afectan la actividad catalítica de las cepas mientras se conserven los genes *phnFGHIJKL* como es el caso de las bacterias *Phyllobacterium sp.*, *Rhizobium sp.* que mostraron ser capaces de metabolizar hasta un 65.8% de glifosato inicial (60 mg/kg) (Massot *et al.*, 2021a). Solo en dos de las cinco cepas (*P. megaterium* FA-05 y *P. putida* CRA-04) se encontró la presencia

del gen *thiO*, el cual codifica una glicina oxidasa y se ha relacionado con la degradación de glifosato a AMPA (Hernández-Guijarro *et al.*, 2021). Esto podría sugerir que la glicina oxidasa podría degradar glifosato, aunque se ha reportado que esta vía no es tan común para la degradación de dicho compuesto en bacterias, ya que esta enzima presenta una baja tasa de degradación de glifosato debido a que la afinidad que tiene la enzima por este sustrato es menor que la descrita para la enzima glifosato oxidorreductasa (GOX); asimismo, en caso de que existiera degradación de glifosato, el AMPA se acumularía como producto ya que las bacterias que presentan este gen no tienen la capacidad para degradarlo (Hernández-Guijarro *et al.*, 2021).

En cuanto a los genes relacionados a posibles vías alternas de degradación y mecanismos de tolerancia, en la cepa *P.putida* CRA-04 se encontraron los genes *phnWX₂* (BIKONL_003024 y BIKONL_003023) y en la cepa *S.maltophilia* CRA-10 los genes *phnAB* (STENO_001078 y STENO_002751), estos genes se han encontrado en otras cepas como *E. coli*, *P. fluorescens* 23F y *A. insolitus* Kg19 (Kulakova *et al.*, 2001; McSorley *et al.*, 2012; Sergey *et al.*, 2020) y se ha demostrado la capacidad de las enzimas que codifican para la degradación de organofosforados, postulando su posible relación con la degradación del glifosato ya que está clasificado como organofosforado (Hui, Yanmei, *et al.*, 2018). Por otro lado, en la cepa *C. sakazakii* FA-08 se encontró la presencia del gen *aroA* (CRONO_02345), relacionado con la tolerancia a altas concentraciones de glifosato, esto podría indicar que la bacteria tiene la posibilidad de crecer en altas concentraciones de este herbicida sin degradarlo ya que no fue posible localizar genes relacionados a su degradación (Liu y Cao, 2018).

Cuadro 6. Genes relacionados a degradación y tolerancia de glifosato o AMPA encontrados en las cepas.

Cepa	Genes	Enzima	Mecanismo
<i>P. putida</i> CRA-04	<i>phn</i> (<i>E₁E₂CD</i>)	Sistemas de transporte ABC (ATP-Binding Cassette)	Transporte de fosfatos
	<i>phnWX₂</i>	2-fosfonoacetil hidrolasa	Metabolismo de organofosforados
<i>S. maltophilia</i> CRA-10	<i>phnAB</i>	2-aminoetil fosfatasa	Metabolismo de organofosforados
	<i>phnD</i> y <i>phnP</i>	Sistemas de transporte	Transporte de fosfatos
<i>P. megaterium</i> FA-05	<i>thiO</i>	Glicina oxidasa	Degradación de glifosato, ruptura enlace C-N
<i>C. sakazakii</i> FA-08	<i>phnH</i>	Cistrón C-P liasa	Degradación de glifosato y AMPA, ruptura enlace C-P
	<i>aroA</i>	EPSPS clase II	Tolerancia al glifosato
<i>P. dispersa</i> F-22	<i>phn</i> (C-P)	C-P liasa	Degradación de glifosato y AMPA, ruptura enlace C-P

6.2.2. Genes de Virulencia y de Resistencia a Antibióticos

Se detectaron genes relacionados a la resistencia a diversos antibióticos utilizando la base de datos CARD (Comprehensive Antibiotic Resistance Database) (Cuadro 7). Entre los genes asociados a resistencia a antibióticos, entre los más comunes detectados en la mayoría de las cepas se encuentran genes que confieren resistencia a fluoroquinolonas y tetraciclina, a excepción de *P. megaterium* FA-05. Asimismo, se detectó la presencia de diversas bombas de flujo, las cuales están relacionadas con la resistencia a cefalosporinas, rifamicina, macrólidos y antibióticos glicosilados (Alekhun y Levy, 1997; Alcock *et al.*, 2023). En el caso de la búsqueda de genes de virulencia en las bases de datos VFDB (Chen, 2004) y RAST (Aziz *et al.*, 2008), no se detectó ningún gen de este tipo en los genomas. La presencia de todos estos genes de resistencia a antibióticos podría asociarse a que son ampliamente utilizados para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas en la industria agrícola, por lo que la liberación continua de estas sustancias promueve la propagación de bacterias (BRA) y genes resistentes a antibióticos (GRA) en diferentes compartimientos ambientales como el agua, suelo y la atmósfera (Awad *et al.*, 2014; Zhu *et al.*,

2019; Yang *et al.*, 2021).

En el sistema de suelo-planta existe una variedad de fuentes de resistencia a antibióticos, como el estiércol utilizado para incrementar la fertilidad del suelo y promover el crecimiento de los cultivos (Chang *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2022); sin embargo, el estiércol de ganado a menudo contiene residuos de antibióticos, esto tiene como resultado la diseminación de BRA (Guo *et al.*, 2018).

La prevalencia de BRA y GRA en el sistema planta-suelo se atribuye a la presión selectiva de residuos de antibióticos resultado de la aplicación de estiércol, lodo de aguas residuales y al riego con agua residual regenerada. Además, la transferencia horizontal de genes y los cambios dinámicos de las comunidades bacterianas han jugado un rol crítico en la diseminación de resistencia a antibióticos en suelo y plantas (Xiao *et al.*, 2023)

Cuadro 7. Genes de resistencia a antibióticos presentes en las cepas. AMR, resistencia antimicrobiana.

Cepa	Gen	Familia amr	Resistencia adquirida	Referencia
<i>Priestia megaterium</i> (FA-05)	<i>FosBx1</i>	Fosfomicina thiol transferasa	Fosfomicina	Khabthani <i>et al.</i> , 2021
	<i>qacG-J</i>	Bomba de flujo (SMR)	Agentes desinfectantes y antisépticos	Heir <i>et al.</i> , 1999
	<i>BcIII</i>	Clase A Bc beta-lactamasa	Cefalosporinas y carbapenémicos	Torkar y Bedenić, 2018
<i>Cronobacter sakazakii</i> (FA-08)	<i>qacEdelta1</i>	Bomba de flujo (MFS)	Agentes desinfectantes y antisépticos	Kazama <i>et al.</i> , 1999
	<i>aadA2</i>	ANT (3")	Antibióticos aminoglucósidos	Chen <i>et al.</i> , 2007
	<i>msbA</i>	Bomba de flujo (ABC)	Nitroimidazol	Reyes <i>et al.</i> , 2006
	<i>acrA</i>	Bomba de flujo (RND)	Fluoroquinolonas, cefalosporinas, carbapenémicos, tetraciclina, rifamicina, fenicol	Poole, 2004
	<i>CSA-1</i>	CSA beta-lactamasa	Cefalosporinas	ARO:3006869
	<i>marA</i>	Porina bacteriana con permeabilidad reducida a betalactámicos	Monobactámicos	Alekshun y Levy, 1997
	<i>KpnF-E</i>	Bomba de flujo (SMR)	Macrólidos, aminoglucósidos, cefalosporinas, tetraciclina y rifamicina	Srinivasan y Rajamohan, 2013

	<i>H-NS</i>		Macrólidos, fluoroquinolonas, cefalosporinas, tetraciclina, cefamicina	Nishino y Yamaguchi, 2004
	<i>emrR-B</i>		Fluoroquinolonas	Lomovskaya <i>et al.</i> , 1995
	<i>rsmA</i>	Bomba de flujo (RND)	Diaminopiridininas y fenicol	Pessi <i>et al.</i> , 2001
	<i>CRP</i>	Bomba de flujo (RND)	Macrólidos	Nishino <i>et al.</i> , 2008
<i>Pseudomonas putida</i> (CRA-04)	<i>adeF</i>	Bomba de flujo (RND)	Fluoroquinolonas y tetraciclinas	Coyne <i>et al.</i> , 2010
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (CRA-10)	<i>smeR</i>	Bomba de flujo (RND)	Aminoglucósidos, cefalosporinas y cefamicina	Li <i>et al.</i> , 2002
	<i>AAC (6')-Iak</i>	<i>AAC (6')</i>	Aminoglucósidos	Tada <i>et al.</i> , 2014
	<i>APH (9)-Ic</i>	<i>APH (9)</i>	Aminoglucósidos	Shi <i>et al.</i> , 2022
	<i>adeF</i>	Bomba de flujo (RND)	Fluoroquinolonas y tetraciclinas	Coyne <i>et al.</i> , 2010
<i>Pantoea dispersa</i> (F-22)	<i>CRP</i>	Bomba de flujo (RND)	Macrólidos	Nishino <i>et al.</i> , 2008
	<i>sul1</i>	Resistencia sulfamida	Sulfamida	Márquez <i>et al.</i> , 2008
	<i>adeF</i>	Bomba de flujo (RND)	Fluoroquinolonas y tetraciclinas	Coyne <i>et al.</i> , 2010
	<i>emrR-B</i>	Bomba de flujo (SMR)	Fluoroquinolonas	Lomovskaya <i>et al.</i> , 1995
	<i>rsmA</i>	Bomba de flujo (RND)	Diaminopiridininas y fenicol	Pessi <i>et al.</i> , 2001
	<i>KpnF-E</i>	Bomba de flujo (SMR)	Macrólidos, aminoglucósidos, cefalosporinas, tetraciclina, rifamicina	Srinivasan y Rajamohan, 2013
	Ecol_EFTu_PLV	Resistencia elfamicina	Elfamicina	Zeef <i>et al.</i> , 1994

6.2.3. Genes de Degradación a Otros Plaguicidas y Propiedades Promotoras de Crecimiento en Plantas

La búsqueda de genes relacionados a la degradación de otros plaguicidas en las bacterias en estudio reveló que no poseen en su genoma genes reportados a esta función. Por otro lado, se encontró la presencia de diversos genes relacionados a propiedades promotoras de crecimiento mediante el uso

de ABRicate, Bacterial antiSMASH y RAST. En las bacterias *P. putida* CRA-04, *S. maltophilia* CRA-10 y *C. sakazakii* FA-08, se encontraron los genes *narK*, *narG*, *narH*, *narJ* y *narI*, involucrados en la síntesis de las subunidades alfa, beta y gama de la enzima nitrato reductasa o nitrito oxidorreductasa (Hamada y Soliman, 2023), enzimas involucradas en el proceso de nitrificación específicamente en la reacción de oxidación del nitrito a nitrato (Blasco *et al.*, 1990). Asimismo, fue posible encontrar en la cepa *P. dispersa* F-22 los genes *napA*, *napB* y *napC*, involucrados en la síntesis de estas subunidades en una enzima nitrato reductasa homóloga.

El nitrato es el principal compuesto que utilizan las plantas como fuente de nitrógeno, siendo un nutriente esencial para el desarrollo y crecimiento ya que es componente en ácidos nucleicos, aminoácidos, la clorofila, entre otras (O'Brien, 2016). Asimismo, el nitrato funciona como una molécula señalizadora involucrada en la modulación de la expresión de los genes involucrados en el crecimiento de la planta, en la arquitectura del sistema de raíces (RSA) (Vidal y Gutiérrez, 2008), desarrollo de las hojas (Rahayu, 2005) y la floración (Castro Marín *et al.*, 2011). Por otro lado, en la cepa *P. megaterium* FA-05 se encontraron los genes *norD* y *norQ*, que codifican las subunidades de la enzima óxido nítrico reductasa, involucrada en la reducción de óxido nítrico (NO) a óxido nitroso (N₂O), paso clave del proceso de desnitrificación en suelos, puesto que el óxido nítrico es tóxico (Kahle *et al.*, 2023). Estudios previos en el grupo mostraron que todas las cepas, excepto *P. putida* CRA-04, fueron positivas para la prueba bioquímica de reducción de nitratos (Figueroa-Iriarte, 2023; datos no publicados), indicando que presentan genes que contribuyen con el ciclo del nitrógeno en el ecosistema.

De igual forma, se encontró la presencia de clusters relacionados a la síntesis de diferentes moléculas de sideróforos, como es el caso de la enterobactina en *P. dispersa* y *C. sakazakii*, la frederiksanibactina en *P. dispersa*, la Aerobactina en *C. sakazakii* y la 2,3-dihidroxibenzilserina en *S. maltophilia*. Estos sideróforos son comúnmente reportados en cepas de *B. cereus*, *B. subtilis* y *Yersenia frederiksenii* y permiten la biodisponibilidad de iones férricos contribuyendo a la asimilación de estos iones en las plantas y favoreciendo su desarrollo debido a que el hierro es un componente importante para la realización de la fotosíntesis en plantas (Guzman-Mellado, 2022; Stow *et al.*, 2021; Timofeeva *et al.*, 2022). La presencia de estos sideróforos también es crucial para la vida de las bacterias ya que estas necesitan la presencia de iones metálicos para su desarrollo (Butler *et al.*, 2023). En la cepa de *P. megaterium* FA-05 solamente se encontraron clústers relacionados a la producción de biosurfactantes (surfactina) de acuerdo con anti-SMASH, esto

concuerta con el estudio realizado por Stancu (2020), donde determinó la capacidad de la cepa *P. megaterium* IBB_{P017} para producir biosurfactantes en medio suplementado con un hidrocarburo (n-alcano n-hexadecano). Los biosurfactantes se caracterizan por reducir la tensión superficial del agua y producir micelas que emulsionan a los hidrocarburos para solubilizarlos permitiendo que se encuentren más disponibles para su degradación (Sriram, 2020). Estos compuestos son altamente utilizados para la biorremediación de suelos contaminados debido a su rápida biodegradación y baja toxicidad, además que favorecen a la accesibilidad de nutrientes (De la Rosa Cruz *et al.*, 2014).

6.3. Determinación de UFC/mL

La determinación de UFC/mL se realizó con la finalidad de determinar la cantidad de inóculo bacteriano que se utilizó para evaluar la degradación de glifosato y AMPA *in vitro*. Como se observa en el Cuadro 8, la cantidad de UFC/mL a una DO600 fue homogénea según la dilución teniendo valores que oscilaron entre 2×10^{12} - 2.7×10^{12} UFC/mL calculado para la dilución 10^{-9} , mientras que para la dilución 10^{-10} se obtuvo un rango de 1.53×10^{13} - 2.5×10^{13} UFC/mL. De estos resultados, se consideró la mayor dilución por lo que la concentración de las cepas a una DO600 de 1.5 fue aproximadamente de 10^{13} UFC/mL.

Cuadro 8. Resultados de la cuantificación de UFC/mL a una DO600 de 1.5 de las cepas en estudio.

Cepa bacteriana	Dilución	Réplica			Colonias promedio	Concentración bacteriana
		R1	R2	R3		UFC/ml
<i>P. dispersa</i> F-22	10^{-9}	264	250	237	250	2.5×10^{12}
	10^{-10}	170	139	150	153	1.53×10^{13}
<i>P. megaterium</i> FA-05	10^{-9}	265	245	312	274	2.74×10^{12}
	10^{-10}	206	213	210	210	2.1×10^{13}
<i>P. putida</i> CRA-04	10^{-9}	211	190	200	200	2×10^{12}
	10^{-10}	120	165	227	171	1.7×10^{13}
<i>S. maltophilia</i> CRA-10	10^{-9}	217	203	254	225	2.25×10^{12}
	10^{-10}	237	249	186	224	2.24×10^{13}
<i>C. sakazakii</i> FA-08	10^{-9}	230	250	255	245	2.45×10^{12}
	10^{-10}	240	261	247	250	2.5×10^{13}

R1, R2, R3, corresponden a los conteos de colonias realizados en las réplicas.

6.4. Degradación de Glifosato en Cultivo *in vitro*

6.4.1 Degradación en Cepas Aisladas en Costa Rica (CR)

La degradación de glifosato se evaluó en las cepas *P. putida* CRA-04 y *S. maltophilia* CRA-10 que fueron aisladas de la localidad de Costa Rica (CR) como monocultivos y en cultivo mixto. En las cepas *P. putida* CRA-04 y *S. maltophilia* CRA-10 en monocultivo y cultivo mixto se evaluó el crecimiento bacteriano monitoreado por la DO600 y la cuantificación de la concentración del glifosato presente en el medio MSM2, a los tres y seis días. Como resultado se observó un aumento en el crecimiento en todos los tratamientos a partir del tercer día, siendo mayor en CRA-04 y el consorcio, mientras que en CRA-10 fue más bajo. No obstante, al día 6 de crecimiento se observó que CRA-04 y el consorcio bajaron su ritmo de crecimiento, mientras que CRA-10 creció en mayor proporción, aunque no logró las DO600 finales de los otros tratamientos (Figura 7).

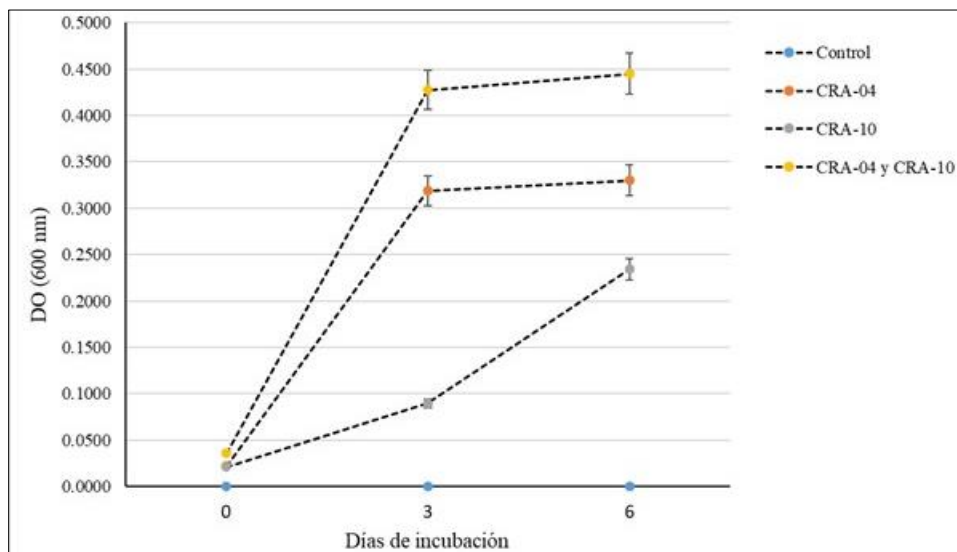


Figura 7. Cinética de crecimiento durante la degradación de glifosato, monitoreado por la densidad óptica a 600 nm (DO600) en los tratamientos con las cepas CR. Las barras representan el error estándar

Por otro lado, los ensayos de cuantificación de glifosato mostraron que, de los tratamientos evaluados, solo el consorcio conformado por *P. putida* CRA-04 y *S. maltophilia* CRA-10 fueron significativos ($p < 0.05$) con una reducción de un 17% del glifosato inicial (aproximadamente 30 mg/L), mientras que en las cepas como monocultivos no se detectó degradación a pesar de que todos los tratamientos mostraron crecimiento. Asimismo, el control mostró una ligera disminución en la cantidad de glifosato inicial, aunque esta disminución no fue significativa, lo cual indica que la degradación abiótica de glifosato en el experimento no fue significativa. De manera similar, en algunos tratamientos hubo un aumento de glifosato en el día 3 y 6 de cultivo, sin embargo, no fueron cambios significativos por lo que puede asumirse que son parte de la variabilidad del experimento y el método de cuantificación.

Por otro lado, los resultados de la cuantificación de AMPA residual fueron muy variables y, en particular, en todos los tratamientos en el tiempo cero se detectaron concentraciones mínimas de AMPA (entre 0.0564 y 0.1416 mg/L), lo cual puede explicarse como AMPA residual posiblemente en el material o el cultivo lavado, éste último, aunque se lavó pudieron quedar algunas trazas de preinóculo utilizado para el ensayo. En la cepa *P. putida* CRA-04 se observó una disminución significativa en cuanto al AMPA residual (Figura 8B), lo cual sugiere que si bien la bacteria no tiene la capacidad de degradar glifosato puede tolerarlo, y además podría utilizar el AMPA residual para crecer (Amorós *et al.*, 2007) ya que presentó un aumento en la densidad óptica a partir de los tres días, mismos en los que el AMPA residual comenzó a reducir su concentración en el medio (Figura 7).

Estos resultados difieren a lo reportado por Nourouzi *et al.* (2011) donde se evaluó la degradación de glifosato en otra cepa de *S. maltophilia*, misma que demostró ser capaz de degradar hasta un 94% de glifosato como fuente de carbono y un 2% del AMPA producto del metabolismo como fuente de fósforo, es posible que la cepa este utilizando otros compuestos presentes en el Roundup® como las sales de isopropilamina para complementar su metabolismo ya que son fuente de carbono y nitrógeno ya que si se observó un aumento en la densidad óptica (Amorós *et al.*, 2007). Asimismo, para *P. putida* también existen reportes donde se ha demostrado su capacidad para degradar glifosato (Esikova *et al.*, 2023).

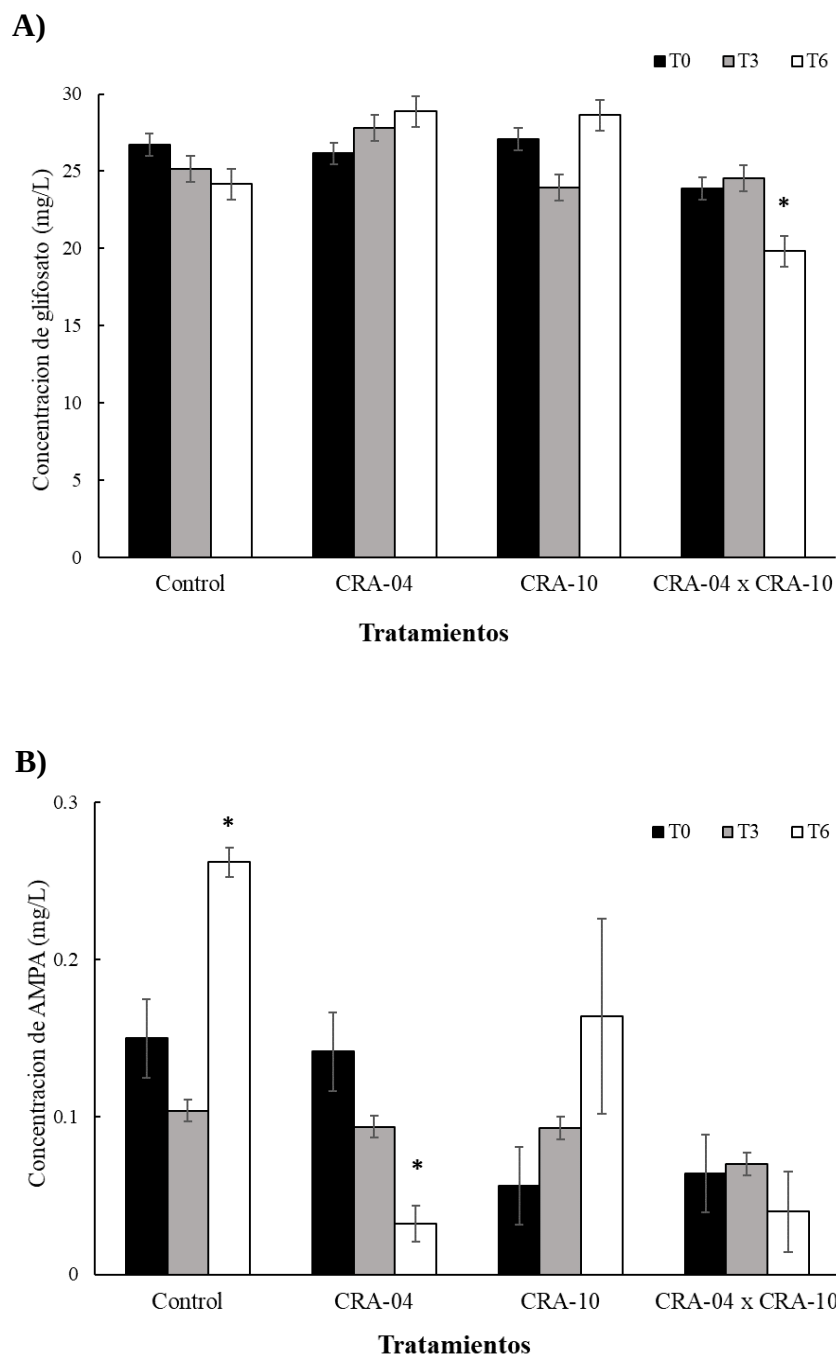


Figura 8. Determinación de la concentración residual de A) glifosato, y B) AMPA, en las cepas aisladas de Costa Rica (CR), en cultivos con 30 mg/L de glifosato inicial a los 0, 3 y 6 días. Las barras representan el error estándar. Los tratamientos con asterisco.

Considerando que solo el consorcio degradó significativamente el glifosato, esto puede sugerir que las cepas CRA-04 y CRA-10 interaccionaron de manera sinérgica la degradación. Estos resultados

también sugieren que las cepas en monocultivo, si bien no degradaron el glifosato, son capaces de tolerarlo, el cual es un mecanismo descrito en la literatura donde se ha reportado que cepas como *B. licheniformis* tienen la capacidad de acetilar el glifosato por la enzima glifosato N-acetiltransferasa impidiendo que este pueda inhibir a la enzima EPSPS (Siehl *et al.*, 2007), así como también existen cepas como *Pantoea* G-1 que presentan al gen *aroA* que codifica para enzimas EPSPS mutantes (Liu y Cao, 2018).

A pesar de que los datos de cuantificación indicaron que en el consorcio existe sinergia por parte de las capas, no fue posible encontrar una relación entre la presencia de los principales genes reportados para la degradación de glifosato y su capacidad para degradar glifosato en consorcios, ya que en ambos genomas no se encontraron todos los cistrones que componen a la fracción catalítica del operón *phn*. Esto podría sugerir que estas bacterias utilizan otro mecanismo para degradar dicho compuesto, puesto que se observó la presencia de los genes *phnX2* (BIKONL_003023) y *phnW* (BIKONL_003024) en la cepa *P. putida* CRA-04, los cuales codifican para la enzima 2-fosfonoacetilaldehído hidrolasa, la cual se ha reportado está relacionada con la degradación de fosfonatos (Martinez *et al.*, 2010) y se ha ligado su posible participación en el metabolismo del glifosato (Chen *et al.*, 2022), así como también los genes *phnA* (STENO_001078) y *phnB* (STENO_002751) en la cepa *S. maltophilia* CRA-10 implicados en la síntesis de la proteína fosfonoacetato hidrolasa (Kulakova *et al.*, 2001), la cual también se ha mencionado que podría participar en la degradación (McSorley *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2022), por esta razón se hipotetiza que ante esta condición de consorcio es posible las bacterias pudiesen estar utilizando estas vías o alguna aún no descrita.

6.4.2 Degradación en Cepas Aisladas en Fundación Produce Sinaloa (FPS)

La cuantificación de la concentración de glifosato y AMPA residual para las cepas aisladas en Fundación Produce Sinaloa (FPS), se realizó a diferencia de las cepas anteriores solo al inicio y después de seis días de cultivo, aunque el crecimiento monitoreado por DO600 si se realizó a día 0, 3 y 6. El monitoreo del crecimiento mostró que todos los tratamientos, con excepción de la cepa *P. megaterium* FA-05, presentaron crecimiento exponencial a los 3 días, mientras que a los 6 días

ya no hubo crecimiento e incluso los monocultivos de *P. dispersa* F-22 y *C. sakazakii* FA-08 redujeron su crecimiento (figura 9). En el caso de la cepa *P. megaterium* FA-05 a los 3 días hubo una ligera reducción en la DO600 indicando que no hubo crecimiento, sin embargo, a los 6 días alcanzó densidades similares a los demás tratamientos. Lo anterior podría explicarse que esta cepa requirió un mayor tiempo para adaptarse a las condiciones de cultivo presentando una fase lag los primeros 3 días (Olawale *et al.*, 2011).

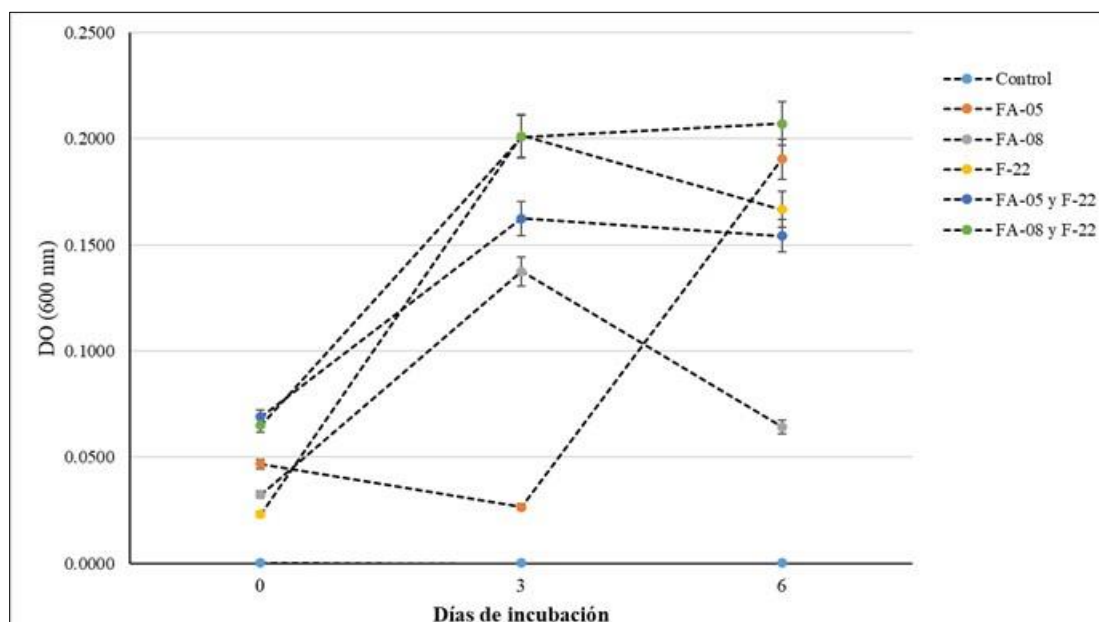


Figura 9. Cinética de crecimiento durante la degradación de glifosato, monitoreado por la densidad óptica a 600 nm (DO600) en los tratamientos con las cepas FPS. Las barras representan error estándar.

Por otro lado, la cuantificación de glifosato reveló que solo la cepa *P. dispersa* F-22 degradó hasta un 24% de glifosato como fuente de fósforo, partiendo de una concentración inicial de 27.559 ± 0.0232 mg/L (figura 10A), lo cual fue significativo ($p < 0.05$). En el caso del AMPA, la cepa *P. dispersa* F-22 también fue capaz de degradar AMPA residual ya sea en monocultivo como en cultivo mixto siendo estadísticamente significativa ($p < 0.05$), a pesar de que en el control si hubo un aumento significativo de AMPA residual (figura 10B). Estos resultados podrían relacionarse con la presencia en su genoma de los 14 cistrones que conforman al operón completo *phn*, el cual está involucrado en la degradación de glifosato a sarcosina (Kishore y Jacob, 1987) y de AMPA a

metilamina; a la fecha aún no se ha reportado esta capacidad degradadora de glifosato en cepas de esta especie, aunque si existen estudios del uso de *P. dispersa* para la degradación de hidrocarburos aromáticos, donde se determinó su capacidad para metabolizar hasta un 55% de estos compuestos en seis días (Lai *et al.*, 2024).

En contraste, se observó que las cepas *P. megaterium* FA-05 y *C. sakazakii* FA-08 no degradaron glifosato en monocultivos ya que no se observaron diferencias significativas en la concentración de glifosato en T0 y T6. Asimismo, el control sin inóculo no presentó una reducción significativa de glifosato indicando que no hubo degradación abiótica en dichas condiciones (Figura 9A). En el caso del AMPA residual, la cepa *P. megaterium* FA-05 mostró un aumento significativo en esta concentración determinando que tampoco es capaz de degradar el AMPA en esta condición; es posible que la falta de degradación por parte de *P. megaterium* FA-05 esté relacionada con el tiempo de exposición ya que se ha reportado en otros estudios que cepas de la misma especie lograron degradar el 70% del glifosato en dos meses, esto podría significar que la bacteria necesita de un tiempo de aclimatación para metabolizar este compuesto (Mousa *et al.*, 2022). Asimismo, la presencia del gen *thiO* que codifica una glicina oxidasa se ha reportado que es menos eficiente en la degradación de glifosato (Pollegioni *et al.*, 2011).

Por otro lado, la cepa *C. sakazakii* FA-08, no presentó una reducción significativa en el AMPA residual, aunque si se observó un aumento en la DO600 (Figura 10), esto puede estar relacionado con el gen *aroA* localizado en su genoma, puesto que se ha reportado que codifica para una enzima EPSPS tolerante al glifosato, permitiéndole a estas bacterias crecer en altas concentraciones de dicho herbicida (Liu y Cao, 2018).

Del mismo modo se evaluó la capacidad degradadora de estas tres cepas en consorcios para determinar la existencia de interacciones sinérgicas que les permitiera aumentar el porcentaje de glifosato metabolizado como se observó en las cepas CR; sin embargo, en ambos consorcios no se presentó una disminución significativa del glifosato aunque si del AMPA residual indicando que es posible que las cepas de *P. megaterium* FA-05 y *C. sakazakii* FA-08 estén ejerciendo un efecto antagonista hacia la cepa *P. dispersa* F-22 y en sus respectivos consorcios en cuanto a la degradación de glifosato pero no de AMPA (Figura 9A), ya que el AMPA residual mostró una reducción significativa entre los tiempos T0 y T6 ($p < 0.05$), mostrando que ambos consorcios tienen la capacidad de metabolizar este compuesto en esta condición.

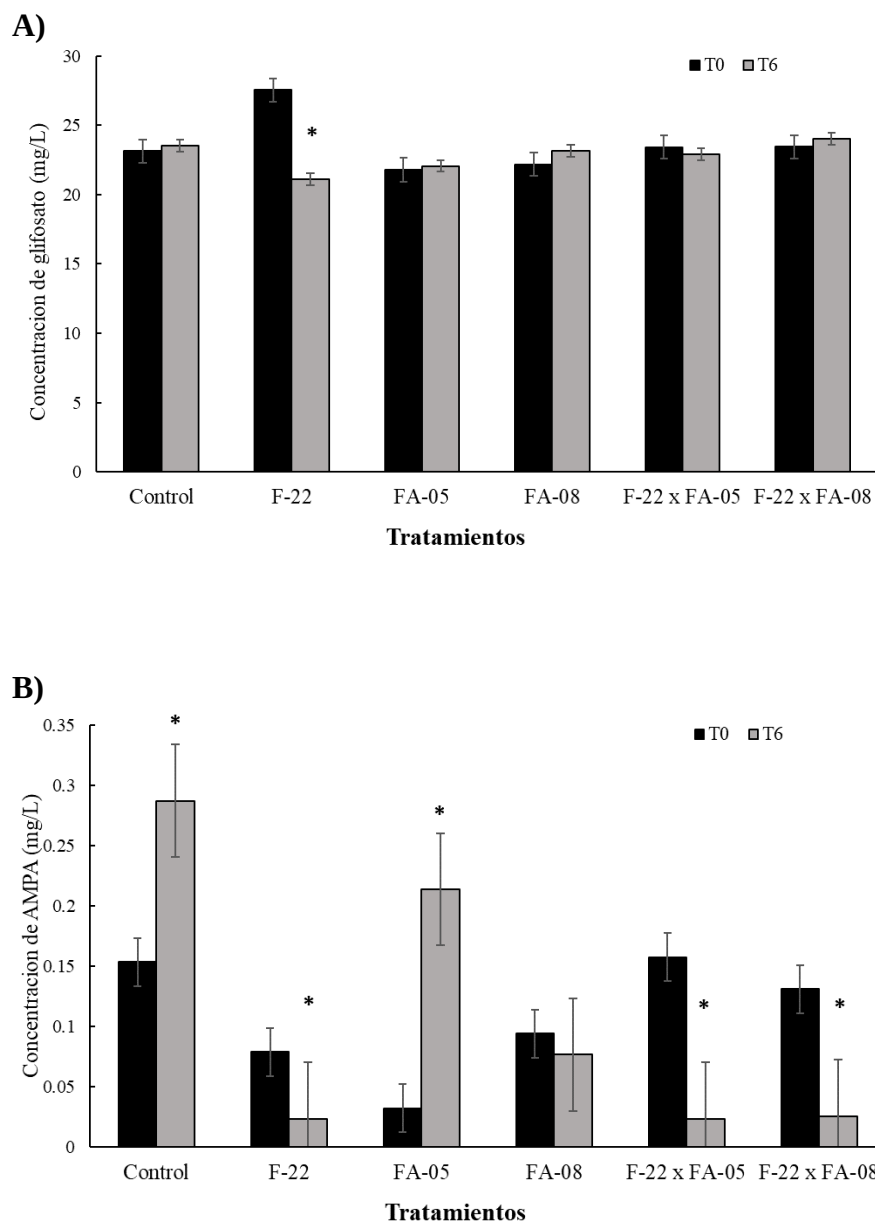


Figura 10. Determinación de la concentración residual de A) glifosato, y B) AMPA, en las cepas aisladas de Fundación Produce Sinaloa (FPS), en cultivos con 30 mg/L de glifosato inicial a los 0 y 6 días. Las barras representan el error estándar. Los tratamientos significativamente diferentes están representados con un asterisco ($p < 0.05$).

6.5. Degradación de AMPA en Cultivo *in vitro*

La degradación de AMPA se evaluó a diferencia del glifosato solo en monocultivos con la finalidad

de determinar la capacidad de las cepas en estudio para degradar dicho metabolito. La ANOVA y la prueba de Tukey mostraron diferencias significativas en la degradación de AMPA entre las cepas ($p < 0.05$). Las bacterias que mostraron esta capacidad fueron *P. dispersa* F-22 y *S. maltophilia* CRA-10 degradando casi en su totalidad el AMPA a los 6 días, redujeron la concentración de este compuesto en un 86.41% y 77.66%, respectivamente (Figura 11). Esto se esperaba para la cepa *P. dispersa* F-22 ya que posee todos los cistrones pertenecientes al operón *phn*, que codifica para la enzima C-P liasa, reportada para la degradación de AMPA en metilamina y fosfato (Jacob *et al.*, 1988). Por otro lado, este comportamiento no se esperaba en la cepa *S. maltophilia* CRA-10 debido a que no fue posible identificar en su genoma genes relacionados a la C-P liasa del operon *phn*, aunque si se identificaron los genes *phnD* y *phnP* asociados al transporte, hipotetizando que es posible que existan otros mecanismos relacionados a la degradación de este compuesto que aún no se conocen.

Por otro lado, el crecimiento bacteriano monitoreado por la DO600 indicó que todas las cepas fueron capaces de crecer en el medio, excepto la cepa *C. sakazakii* FA-08 (Figura 12). Lo anterior indica que las cepas *P. putida* CRA-04 y *P. megaterium* FA-05 son tolerantes al AMPA, mientras que *C. sakazakii* FA-08 es sensible al AMPA ya que no creció y no redujo la concentración de AMPA. En el caso de la cepa *P. putida* CRA-04, donde se observó una disminución significativa del AMPA residual en ensayos de glifosato, no logró degradar el AMPA en estos ensayos a una concentración de 24.429 ± 2.289 mg/L (Figura 11), posiblemente sugiriendo que altas concentraciones de este compuesto pueden inhibir la degradación de concentraciones residuales de AMPA. A la fecha, no hay reportes de cepas que sean tolerantes al AMPA, y por tal, no se conocen los mecanismos que confieren resistencia a este compuesto.

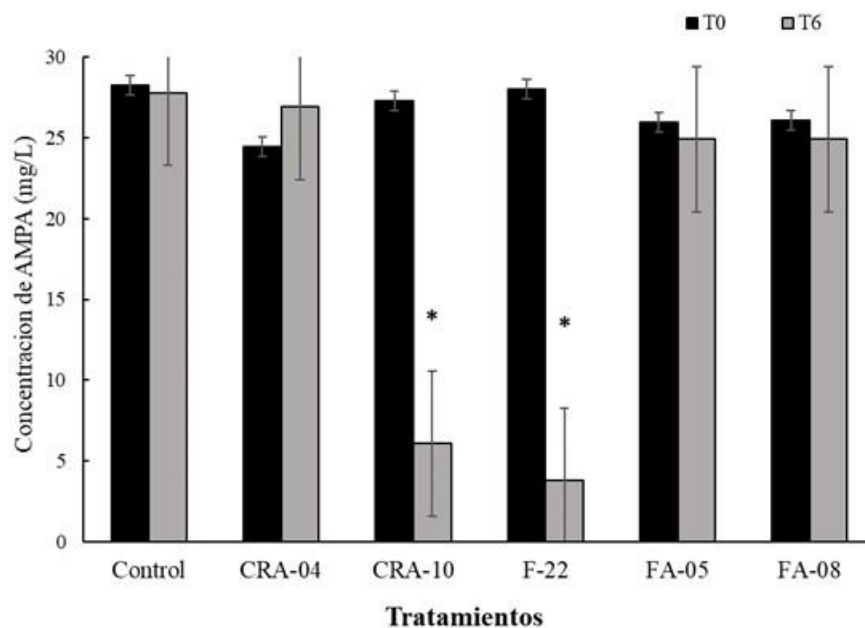


Figura 11. Evaluación de la degradación de AMPA. La concentración inicial de AMPA en el ensayo fue alrededor de 30 mg/L evaluando la concentración al inicio (T0) y a los 6 días (T6) de cultivo. Los tratamientos significativamente diferentes están representados con un asterisco ($p < 0.05$). Las barras representan el error estándar.

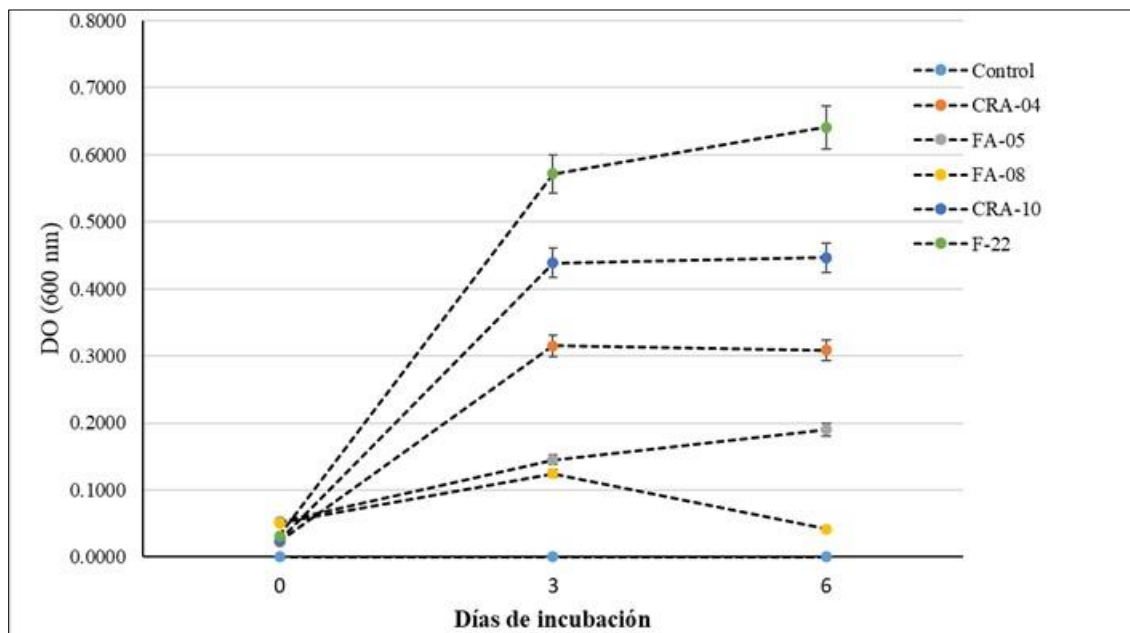


Figura 12. Cinética de crecimiento durante la degradación de AMPA, monitoreado por la densidad óptica a 600 nm (DO600) en los tratamientos con todas las cepas. Las barras representan el error estándar.

6.6. Ensayo de Degradación de Glifosato en Microcosmos de Suelo

El ensayo de microcosmos de suelo se llevó a cabo con la finalidad de determinar la capacidad de la cepa *P. dispersa* F-22 y el consorcio conformado por *P. putida* CRA-04 y *S. maltophilia* CRA-10 para degradar glifosato en condiciones controladas. El suelo utilizado fue de naturaleza arcillosa y limosa, con altas concentraciones de iones de calcio, magnesio y sodio, así mismo cabe destacar la presencia de trazas de glifosato (0.00676 mg/kg) y AMPA (0.01480 mg/kg). Los resultados de la cuantificación de glifosato en el suelo mostraron que la cantidad inicial de glifosato fue la esperada entre 25 a 30 mg/L al inicio del experimento en todos los tratamientos. Sin embargo, el control constituido por suelo sin inóculo mostró la menor concentración de glifosato a partir de los 15 días de incubación manteniéndose a los 30 y 45 días en comparación con los tratamientos de la cepa *P. dispersa* F-22 y el consorcio, los cuales presentaron valores mayores (Figura 13).

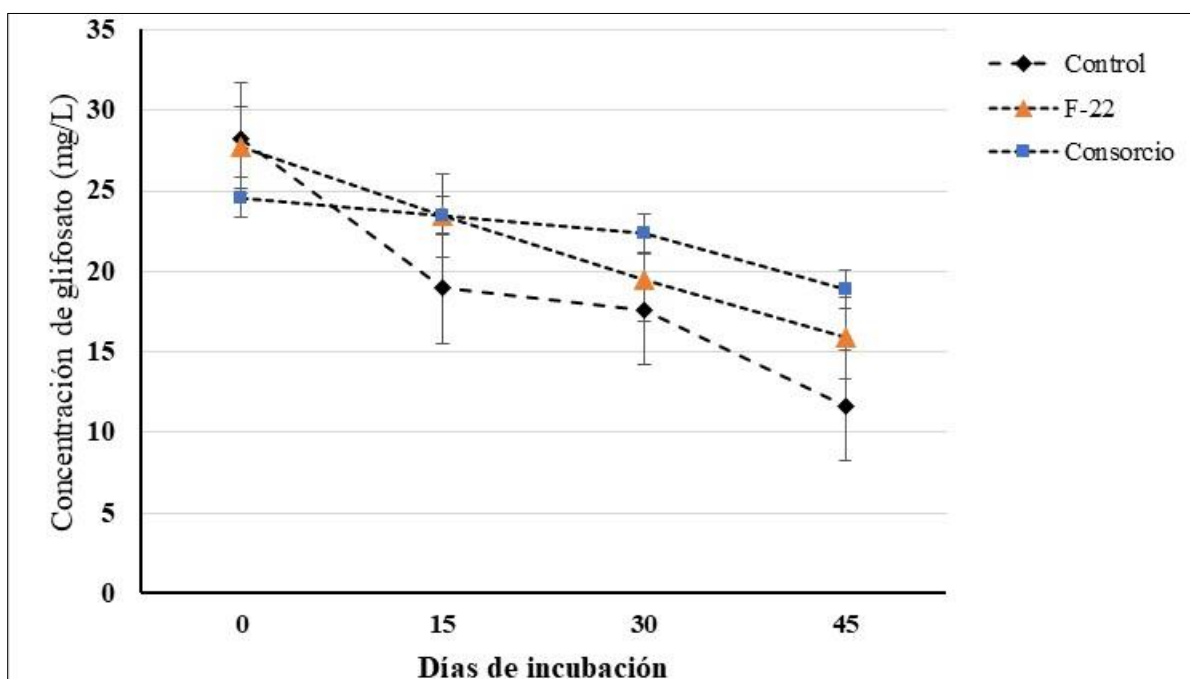


Figura 13. Concentración de glifosato residual (mg/L) en microcosmos de suelo utilizando la cepa *P. dispersa* F-22 y el consorcio conformado por *P. putida* CRA-04 y *S. maltophilia* CRA-10 a los 0, 15, 30 y 45 días. Las barras representan el error estándar.

El análisis de ANOVA y la prueba de comparación de medias Tukey revelaron que no existen

diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), no obstante, si se observó una tendencia por parte del control de disminuir aún más la concentración de glifosato. Esto difiere de lo reportado por Bastidas-Bastidas *et al.* (2023), donde determinó que un consorcio conformado por las cepas *P. megaterium* FA-05, *Enterobacter sp.* CRG-10, *Erwinia sp.* F-16, *C. sakazakii* FA-08 y *P. aeruginosa* CRA-07 presentaron la capacidad para degradar glifosato, ya que de una concentración inicial de 30.33 mg/kg de glifosato se alcanzó una concentración final de 3.942 mg/Kg a los 78 días, mientras que el control (degradación abiótica) se mantuvo sin disminuir significativamente. De aquí, se sugiere que existió una deficiencia en la esterilización del suelo y es necesario repetir el experimento para determinar la capacidad de degradación de estas cepas.

7. CONCLUSIONES

Las cepas bacterianas estudiadas mostraron diferentes comportamientos al estar expuestas al glifosato, donde a través de los ensayos de degradación de glifosato y monitoreo de la DO600, se encontró que las cepas *P. megaterium* FA-05, *C. sakazakii* FA-08, *P. putida* CRA-04 y *S. maltophilia* CRA-10 mostraron ser tolerantes al glifosato.

La cepa *P. dispersa* F-22 presentó el mejor potencial para ser utilizada como inoculante bacteriano, así como el consorcio formado por las cepas *P. putida* CRA-04 y *S. maltophilia* CRA-10, ya que en estas conformaciones se logró demostrar la capacidad metabólica para degradar el glifosato.

En el caso del AMPA, se encontró que solo las cepas *P. dispersa* F-22 y *S. maltophilia* CRA-10 fueron capaces de metabolizar este compuesto en un 86.41% y 77.66%, respectivamente; no obstante, para el AMPA residual de estos ensayos se observó que la cepa *P. putida* CRA-04 y los consorcios FA-05 x F-22 y FA-08 x F-22, también pudieron metabolizarlo.

Genómicamente, se encontró el operón *phn* completo en la cepa *P. dispersa* F-22, así como los cistrones *phnE1E2CD*, *phnD-phnP* y *phnH* del mismo operón en las cepas *P. putida* CRA-04, *S. maltophilia* CRA-10 y *C. sakazakii* FA-08, respectivamente, también se mostró la presencia de otros genes de degradación como el gen *thiO* en la cepa *P. megaterium* FA-05 y genes de posibles vías alternas (*phnYX2* y *phnAB*). Por otro lado, también se demostró la tolerancia de la cepa *C. sakazakii* FA-08 hacia el glifosato ya que en su genoma poseía el gen *aroA* además de no presentar la capacidad de metabolizar este compuesto pero si de crecer en su presencia. Asimismo, se identificaron algunos genes asociados a propiedades promotoras del crecimiento en plantas, las cuales son características adicionales deseables en un inoculante.

Los resultados obtenidos en los experimentos divergen en parte de la hipótesis planteada, debido a que aunque si se mostró una mayor degradación por parte de la cepa *P. dispersa* F-22 que contenía al operón completo *phn*, esto no fue similar para la cepa *P. megaterium* FA-05 que presentó el gen *thiO*, otro de los genes reportados para la degradación de glifosato. Por otra parte, la cepa *S. maltophilia* CRA-10, no presentó ninguno de los genes esperados pero si demostró la capacidad para degradar AMPA, esto puede estar relacionado con la existencia de otras rutas aún no reportadas que pueden demostrar otras vías en las que las cepas metabolizan este compuesto.

8. RECOMENDACIONES

Dados los resultados obtenidos, se recomienda que las cepas o consorcios que resultaron significativos en la degradación de glifosato o AMPA sean objeto para el análisis transcriptómico con la finalidad de determinar los cambios transcripcionales que ocurren de manera global en la bacteria e identificar otras vías que pudieran estar involucradas en la degradación del glifosato y AMPA. Asimismo, se recomienda la repetición de los ensayos de suelo, ya sea en microcosmos de suelo estéril o en macetas, para demostrar que las cepas candidatas logran reducir las concentraciones de glifosato y AMPA en condiciones ambientales relevantes. Por último, resulta conveniente evaluar experimentalmente las propiedades promotoras de crecimiento en plantas identificadas en los genomas de las cepas, para determinar si éstas presentan estas características beneficiosas adicionales para la generación de inoculantes bacterianos.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Cortés, A. G., Martínez-Ledezma, C., López-Chuken, U. J., Kaushik, G., Nimesh, S., y Villarreal-Chiu, J. F. (2019). Polyphosphate recovery by a native *Bacillus cereus* strain as a direct effect of glyphosate uptake. *The ISME Journal*, 13(6), 1497–1505. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0366-3>
- AGROASEMEX. (2019, April 12). *Las plagas producen pérdidas de hasta un 40 por ciento en la producción agrícola, revela estudio de la FAO*. Gobierno de México. [https://www.gob.mx/agroasemex/articulos/las-plagas-producen-perdidas-de-hasta-un-40-por-ciento-en-la-produccion-agricola-revela-estudio-de-la-fao#:~:text=Hasta%20un%2040%20por%20ciento%20de%20la%20producci%C3%B3n%20agr%C3%ADcola%20mundial,y%20la%20Agricultura%20\(FAO\).](https://www.gob.mx/agroasemex/articulos/las-plagas-producen-perdidas-de-hasta-un-40-por-ciento-en-la-produccion-agricola-revela-estudio-de-la-fao#:~:text=Hasta%20un%2040%20por%20ciento%20de%20la%20producci%C3%B3n%20agr%C3%ADcola%20mundial,y%20la%20Agricultura%20(FAO).)
- Agroasemex, S. A. (2019). *Las plagas producen pérdidas de hasta un 40 por ciento en la producción agrícola, revela estudio de la FAO*.
- Aguado-Santacruz, G. A., Moreno-Gómez, B., Jiménez-Francisco, B., García-Moya, E., y Preciado-Ortiz, R. E. (2012). IMPACTO DE LOS SIDERÓFOROS MICROBIANOS Y FITOSIDERÓFOROS EN LA ASIMILACIÓN DE HIERRO POR LAS PLANTAS: UNA SÍNTESIS. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9. <https://doi.org/10.35196/rfm.2012.1.9>
- Agunbiade, V. F., y Babalola, O. O. (2024). Drought Stress Amelioration Attributes of Plant-Associated Microbiome on Agricultural Plants. *Bioinformatics and Biology Insights*, 18. <https://doi.org/10.1177/11779322241233442>
- Ai-Xing, Hu, You-Yan, Qing-Yun, y Yi-Ming. (2017). Purification and Characterization of a Novel β -Cypermethrin-Degrading Aminopeptidase from *Pseudomonas aeruginosa* GF31. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(43), 9412–9418. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03288>
- Alarape, S. A., Fagbohun, A. F., Ipadeola, O. A., Adeigbo, A. A., Adesola, R. O., y Adeyemo, O. K. (2023). Assessment of glyphosate and its metabolites' residue concentrations in cultured African Catfish offered for sale in selected markets in Ibadan, Oyo State, Nigeria. *Frontiers in Toxicology*, 5. <https://doi.org/10.3389/ftox.2023.1250137>
- Alcock, B. P., Huynh, W., Chalil, R., Smith, K. W., Raphenya, A. R., Wlodarski, M. A., Edalatmand, A., Petkau, A., Syed, S. A., Tsang, K. K., Baker, S. J. C., Dave, M., McCarthy, M. C., Mukiri, K. M., Nasir, J. A., Golbon, B., Imtiaz, H., Jiang, X., Kaur, K., ... McArthur, A. G. (2023). CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D690–D699. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac920>
- Alekshun, M. N., y Levy, S. B. (1997a). Regulation of chromosomally mediated multiple antibiotic resistance: the mar regulon. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(10), 2067–2075. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.10.2067>
- Alekshun, M. N., y Levy, S. B. (1997b). Regulation of chromosomally mediated multiple antibiotic resistance: the mar regulon. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(10), 2067–2075.

<https://doi.org/10.1128/AAC.41.10.2067>

- Alvaro, A. (2008). *Herbicidas: Modos y mecanismos de acción en plantas*. <https://www.researchgate.net/publication/259175751>
- Amorós, I., Alonso, J. L., Romaguera, S., y Carrasco, J. M. (2007). Assessment of toxicity of a glyphosate-based formulation using bacterial systems in lake water. *Chemosphere*, 67(11), 2221–2228. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.020>
- Anvisa. (2020). Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos - Relatório 2017 e 2018. *Pesticide Residue Analysis Program*.
- APVM. (2016). *Glyphosate chemical review*. Australian Government. <https://apvma.gov.au/node/12556>
- Arkan, T., y Molnár-Perl, I. (2015). The role of derivatization techniques in the analysis of glyphosate and aminomethyl-phosphonic acid by chromatography. *Microchemical Journal*, 121, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.02.007>
- Asuncion-Cruz, E., Alvarez-Cervantes, J., Villa-Torres, J., y Hernández-Dominguez, E. (2021). *Función, identificación e importancia de fitohormonas: una revisión*. <https://orcid.org/0000-0002-0379-5588>
- ATSDR. (2003). *Resumen de Salud Pública: Malatión*. www.atsdr.cdc.gov/es
- Awad, Y. M., Kim, S.-C., Abd El-Azeem, S. A. M., Kim, K.-H., Kim, K.-R., Kim, K., Jeon, C., Lee, S. S., y Ok, Y. S. (2014). Veterinary antibiotics contamination in water, sediment, and soil near a swine manure composting facility. *Environmental Earth Sciences*, 71(3), 1433–1440. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2548-z>
- Aziz, R. K., Bartels, D., Best, A. A., DeJongh, M., Disz, T., Edwards, R. A., Formsma, K., Gerdes, S., Glass, E. M., Kubal, M., Meyer, F., Olsen, G. J., Olson, R., Osterman, A. L., Overbeek, R. A., McNeil, L. K., Paarmann, D., Paczian, T., Parrello, B., ... Zagnitko, O. (2008). The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. *BMC Genomics*, 9(1), 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75>
- Bailey, K. L., Falk, S., y Bailey@agr, K. (n.d.). *Turning Research on Microbial Bioherbicides into Commercial Products A Phoma Story*.
- Bajwa, A. A., Jabran, K., Shahid, M., Ali, H. H., Chauhan, B. S., y Ehsanullah. (2015). Eco-biology and management of *Echinochloa crus-galli*. *Crop Protection*, 75, 151–162. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.06.001>
- Bala, Garg, Thirumalesh, Sharma, Sridhar, Inbaraj, y Tripathi. (2022). Recent Strategies for Bioremediation of Emerging Pollutants: A Review for a Green and Sustainable Environment. *Toxics*, 10(8), 484. <https://doi.org/10.3390/toxics10080484>
- Balthazor, T. M., y Hallas, L. E. (1986). Glyphosate-Degrading Microorganisms from Industrial Activated Sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 51(2), 432–434. <https://doi.org/10.1128/aem.51.2.432-434.1986>
- Bastidas-Bastidas, P. de J., Pineda-Landeros, J., Olmeda-Runio, C., y Villicana, C. (2023). CINETICA DE DESCOMPOSICION DE GLIFOSATO Y SU METABOLITO AMPA EN SUELO, BAJO CONDICIONES ABIOTICAS Y BIOTICAS. In Memorias de resúmenes del XIX CONGRESO NACIONAL y V CONGRESO INTERNACIONAL DE

HORTICULTURA. Mazatlán, Sinaloa. México. Páginas 193.

- Beckie, H. J. (2006). Herbicide-Resistant Weeds: Management Tactics and Practices. *Weed Technology*, 20(3), 793–814. <https://doi.org/10.1614/wt-05-084r1.1>
- Bell, Stefani, Abram, Champagne, J., Yergeau, E., Hijri, M., y St-Arnaud, M. (2016). A Diverse Soil Microbiome Degrades More Crude Oil than Specialized Bacterial Assemblages Obtained in Culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(18), 5530–5541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01327-16>
- Benbrook, C. M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12302-016-0070-0>
- Blasco, F., Iobbi, C., Ratouchniak, J., Bonnefoy, V., y Chippaux, M. (1990). Nitrate reductases of *Escherichia coli*: sequence of the second nitrate reductase and comparison with that encoded by the narGHJI operon. *Molecular y General Genetics: MGG*, 222(1), 104–111. <https://doi.org/10.1007/BF00283030>
- Bo, Nana, Yi, Luning, Yating, Dayi, Li, G., Sun, G., y Song, Y. (2019). Microbial degradation of organophosphorus pesticides: novel degraders, kinetics, functional genes, and genotoxicity assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(21), 21668–21681. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05135-9>
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., y Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Bowers, R. C. (1986). Commercialization of CollegoTM –An Industrialist’s View. *Weed Science*, 34(S1), 24–25. <https://doi.org/10.1017/S0043174500068326>
- Boyetchko, S. M., Bailey, K. L., Hynes, R. K., y Peng, G. (2007). Development of the mycoherbicide, BioMal®. In *Biological control: a global perspective* (pp. 274–283). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845932657.0274>
- Brenner, K., You, L., y Arnold, F. H. (2008). Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. *Trends in Biotechnology*, 26(9), 483–489. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.05.004>
- Butler, A., Jelowicki, A. M., Ogasawara, H. A., Reitz, Z. L., Stow, P. R., y Thomsen, E. (2023). Mining elements of siderophore chirality encoded in microbial genomes. *FEBS Letters*, 597(1), 134–140. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.14539>
- Cai-Yu, Sheng, Zi-Fa, Shu-Hui, Zhen-Yong, y Lin. (2023). Glyphosate-induced autophagy inhibition results in hepatic steatosis via mediating epigenetic reprogramming of PPAR α in roosters. *Environmental Pollution*, 324, 121394. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121394>
- Campanale, C., Triozzi, M., Massarelli, C., y Uricchio, V. F. (2022). Development of a UHPLC-MS/MS method to enhance the detection of Glyphosate, AMPA and Glufosinate at sub-microgram / L levels in water samples. *Journal of Chromatography A*, 1672, 463028. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463028>
- Carlins, R., y Elliott, T. (2020, December 26). ¿A qué temperatura se mueren los gérmenes? Así tienes que usar el calor para deshacerte de virus y bacterias.

- Carolina Ochoa Carreño, D., y Montoya Restrepo, A. (2010). CONSORCIOS MICROBIANOS: UNA METÁFORA BIOLÓGICA APLICADA A LA ASOCIATIVIDAD EMPRESARIAL EN CADENAS PRODUCTIVAS AGROPECUARIAS. In *rev.fac.cienc.econ: Vol. XVIII* (Issue 2).
- Carrasco Cabrera, L., y Medina Pastor, P. (2021). The 2019 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA Journal*, 19(4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6491>
- Carretta, L., Cardinali, A., Marotta, E., Zanin, G., y Masin, R. (2019). A new rapid procedure for simultaneous determination of glyphosate and AMPA in water at sub $\mu\text{g/L}$ level. *Journal of Chromatography A*, 1600, 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.04.047>
- Castrejón-Godínez, Tovar-Sánchez, Valencia-Cuevas, Rosas-Ramírez, Rodríguez, y Mussali-Galante, P. (2021). Glyphosate Pollution Treatment and Microbial Degradation Alternatives, a Review. *Microorganisms*, 9(11), 2322. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112322>
- Castro Marín, I., Loef, I., Bartetzko, L., Searle, I., Coupland, G., Stitt, M., y Osuna, D. (2011). Nitrate regulates floral induction in Arabidopsis, acting independently of light, gibberellin and autonomous pathways. *Planta*, 233(3), 539–552. <https://doi.org/10.1007/s00425-010-1316-5>
- Castro-Valdez, J. (2023). *Aislamiento de bacterias degradadoras de glifosato y AMPA: alternativas biológicas para la biorremediación de suelos contaminados*.
- CEAIP. (2021). *Análisis de uso de plaguicidas*. <https://monitoreoplaguicidas.ceaipsinaloa.org.mx/analisis-de-uso-de-plaguicidas/>
- Certis Belchim. (2021, August 3). *Fungicidas y bactericidas: diferencias y significado*.
- Chaffai, R., Ganesan, M., y Cherif, A. (2024). Abiotic Stress in Plants: Challenges and Strategies for Enhancing Plant Growth and Development. In *Plant Adaptation to Abiotic Stress: From Signaling Pathways and Microbiomes to Molecular Mechanisms* (pp. 1–30). Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-97-0672-3_1
- Chang, Q., Wang, W., Regev-Yochay, G., Lipsitch, M., y Hanage, W. P. (2015). Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? *Evolutionary Applications*, 8(3), 240–247. <https://doi.org/10.1111/eva.12185>
- Charudattan, R., y Hiebert, E. (2007). A Plant Virus as a Bioherbicide for Tropical Soda Apple, *ylt;Iygt;Solanum Viarumylt;Iygt; Outlooks on Pest Management*, 18(4), 167–171. <https://doi.org/10.1564/18aug07>
- Chen, C. M., Ye, Q. Z., Zhu, Z. M., Wanner, B. L., y Walsh, C. T. (1990). Molecular biology of carbon-phosphorus bond cleavage. Cloning and sequencing of the phn (psiD) genes involved in alkylphosphonate uptake and C-P lyase activity in Escherichia coli B. *Journal of Biological Chemistry*, 265(8), 4461–4471. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)39587-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)39587-0)
- Chen, L. (2004). VFDB: a reference database for bacterial virulence factors. *Nucleic Acids Research*, 33(Database issue), D325–D328. <https://doi.org/10.1093/nar/gki008>
- Chen, Y., Chen, W.-J., Huang, Y., Li, J., Zhong, J., Zhang, W., Zou, Y., Mishra, S., Bhatt, P., y Chen, S. (2022). Insights into the microbial degradation and resistance mechanisms of glyphosate. *Environmental Research*, 215, 114153. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114153>

- Chen, Y.-T., Lauderdale, T.-L., Liao, T.-L., Shiau, Y.-R., Shu, H.-Y., Wu, K.-M., Yan, J.-J., Su, I.-J., y Tsai, S.-F. (2007). Sequencing and comparative genomic analysis of pK29, a 269-kilobase conjugative plasmid encoding CMY-8 and CTX-M-3 beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(8), 3004–3007. <https://doi.org/10.1128/AAC.00167-07>
- Ciofini, A., Negrini, F., Baroncelli, R., y Baraldi, E. (2022). Management of Post-Harvest Anthracnose: Current Approaches and Future Perspectives. *Plants*, 11(14), 1856. <https://doi.org/10.3390/plants11141856>
- Cisneros. (1995). *Control de las plagas agrícolas*.
- CODESIN. (2023). *SINALOA EN NÚMEROS*.
- Coil, D., Jospin, G., y Darling, A. E. (2015). A5-miseq: an updated pipeline to assemble microbial genomes from Illumina MiSeq data. *Bioinformatics*, 31(4), 587–589. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu661>
- CONAHCYT. (2023). *Segunda temporada de la gaceta MEIA*. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?
- Cook, J. C., Charudattan, R., Zimmerman, T. W., Roskopf, E. N., Stall, W. M., y MacDonald, G. E. (2009). Effects of *Alternaria destruens*, Glyphosate, and Ammonium Sulfate Individually and Integrated for Control of Dodder (*Cuscuta pentagona*). *Weed Technology*, 23(4), 550–555. <https://doi.org/10.1614/WT-08-019.1>
- Cortes-Tolalpa, L., Carmona, B., y Cervantes-Salinas, A. (2011). *Ingeniería de vías metabólicas en Escherichia coli para la producción de shikimate como precursor para la síntesis de compuestos antivirales contra influenza*.
- Corteva. (2020). *DURANGO*.
- Cota-Alvarez, A. (2021). *Diseño de metagenómica funcional de consorcios microbianos tolerantes a glifosato, carbofurán, permetrina y clorpirifós*. CIIDIR. Guasave, Sinaloa, México.
- Coyne, S., Rosenfeld, N., Lambert, T., Courvalin, P., y Périchon, B. (2010). Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump AdeFGH confers multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(10), 4389–4393. <https://doi.org/10.1128/AAC.00155-10>
- Cruz-Hernández. (2003). *Estrategias para el manejo de envases de plaguicidas en el Valle de Culiacán* [Tesis de doctorado]. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Darwin. (2020, April 17). *¿Qué es la biorremediación?* Darwin. <https://darwinbioprospecting.com/2020/04/17/que-es-la-biorremediacion/>
- De la Rosa Cruz, N. L., Sánchez-Salinas, E., y Ortiz-Hernández, Ma. L. (2014). Biosurfactantes y su papel en la biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*, 5(1), 4. <https://doi.org/10.7603/s40682-014-0004-8>
- de Moraes Valentim, J. M. B., Coradi, C., Viana, N. P., Fagundes, T. R., Micheletti, P. L., Gaboardi, S. C., Fadel, B., Pizzatti, L., Candiotti, L. Z. P., y Panis, C. (2024). Glyphosate as a Food Contaminant: Main Sources, Detection Levels, and Implications for Human and Public

- Health. *Foods*, 13(11), 1697. <https://doi.org/10.3390/foods13111697>
- de Souza, A. P. F., Rodrigues, N. R., y Reyes, F. G. R. (2021). Glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) residues in Brazilian honey. *Food Additives y Contaminants: Part B*, 14(1), 40–47. <https://doi.org/10.1080/19393210.2020.1855676>
- Del Puerto, Suárez Tamayo, y Palacio Estrada. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372–387. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-300320140003000010&lng=es&nr=1
- deTODO. (1999). *FAENA® (HERBICIDA)*.
- Dill, G. M. (2005). Glyphosate-resistant crops: history, status and future. *Pest Management Science*, 61(3), 219–224. <https://doi.org/10.1002/ps.1008>
- Doménech, J. (2004). *Sanidad ambiental* (Vol. 23).
- Domínguez, A., Brown, G. G., Sautter, K. D., Ribas de Oliveira, C. M., de Vasconcelos, E. C., Niva, C. C., Bartz, M. L. C., y Bedano, J. C. (2016). Toxicity of AMPA to the earthworm *Eisenia andrei* Bouché, 1972 in tropical artificial soil. *Scientific Reports*, 6(1), 19731. <https://doi.org/10.1038/srep19731>
- Dragon. (2023). *LAFAM® Herbicida agrícola Solución acuosa*.
- Echeverría. (2017). *Efecto de Factores Abióticos y Bióticos sobre la Estructura de la Comunidad Microbiana del Suelo en un Ambiente Oligotrófico*.
- EFSA. (2015). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate. *EFSA Journal*, 13(11). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4302>
- Ehling, S., y Reddy, T. M. (2015). Analysis of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Nutritional Ingredients and Milk by Derivatization with Fluorenylmethyloxycarbonyl Chloride and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(48), 10562–10568. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04453>
- El-Azaz-Ciudad, Avila-Saez, y Canovas-Ramos. (2016, February 11). *La biosíntesis de fenilalanina durante el desarrollo de las plantas*. Universidad de Málaga. <https://riuma.uma.es/xmlui/handle/10630/11002>
- EPA. (2022, September 23). *Glyphosate*. EPA. <https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/glyphosate>
- Esikova, T. Z., Anokhina, T. O., Suzina, N. E., Shushkova, T. V., Wu, Y., y Solyanikova, I. P. (2023). Characterization of a New *Pseudomonas putida* Strain Ch2, a Degradator of Toxic Anthropogenic Compounds Epsilon-Caprolactam and Glyphosate. *Microorganisms*, 11(3), 650. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030650>
- Eslami, S. V., y Ward, S. (2021). *Chenopodium album* and *Chenopodium murale*. In *Biology and Management of Problematic Crop Weed Species* (pp. 89–112). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822917-0.00009-4>
- Falconí. (2013). *MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES EN EL CULTIVO DE KIWIHA CONTENIDO*.
- Fan, J., Yang, G., Zhao, H., Shi, G., Geng, Y., Hou, T., y Tao, K. (2012). Isolation, identification

and characterization of a glyphosate-degrading bacterium, *Bacillus cereus* CB4, from soil. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 58(4), 263–271. <https://doi.org/10.2323/jgam.58.263>

FAO. (2019, May 20). *La reducción de la población de abejas es una amenaza para la seguridad alimentaria y la nutrición*. FAO.

FAO. (2022). *Manejo integrado de plagas y plaguicidas*.

FAO. (2024). *Manejo integrado de plagas y plaguicidas*.

Farina, W. M., Balbuena, M. S., Herbert, L. T., Mengoni Goñalons, C., y Vázquez, D. E. (2019). Effects of the Herbicide Glyphosate on Honey Bee Sensory and Cognitive Abilities: Individual Impairments with Implications for the Hive. *Insects*, 10(10), 354. <https://doi.org/10.3390/insects10100354>

Faust, K., y Raes, J. (2012). Microbial interactions: from networks to models. *Nature Reviews Microbiology*, 10(8), 538–550. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2832>

Feldgarden, M., Brover, V., Gonzalez-Escalona, N., Frye, J. G., Haendiges, J., Haft, D. H., Hoffmann, M., Pettengill, J. B., Prasad, A. B., Tillman, G. E., Tyson, G. H., y Klimke, W. (2021). AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Scientific Reports*, 11(1), 12728. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91456-0>

Feng, D., Soric, A., y Boutin, O. (2020). Treatment technologies and degradation pathways of glyphosate: A critical review. *Science of The Total Environment*, 742, 140559. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140559>

Figuroa-Iriarte. (2023). *AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO (AMPA) CON POTENCIAL EN BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS EXPUESTOS A GLIFOSATO* [Licenciatura]. Universidad Autónoma de Sinaloa.. Sinaloa, México

FRAC. (2019). *Clasificación de fungicidas y bactericidas según el modo de acción*.

Galea, V., y Goulter, K. (2013). *Field evaluation of a bioherbicide for control of parkinsonia (Parkinsonia aculeata) in Australia*.

Gholami, D., Emruzi, Z., Noori, A., y Aminzadeh, S. (2021). *Advances in bacterial identification and characterization: methods and applications*.

Ghorbannezhad, H., Moghimi, H., y Dastgheib, S. M. M. (2022). Biodegradation of high molecular weight hydrocarbons under saline condition by halotolerant *Bacillus subtilis* and its mixed cultures with *Pseudomonas* species. *Scientific Reports*, 12(1), 13227. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17001-9>

Glick, B. R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, 2012, 1–15. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>

Gobernado, M., y López-Hontangas, J. L. (2003). PRESENTE Y FUTURO DE LA MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Identificación bacteriana. In *Enferm Infecc Microbiol Clin* (Vol. 21, Issue 2).

Góngora-Echeverría, V. R., García-Escalante, R., Rojas-Herrera, R., Giácoman-Vallejos, G., y

- Ponce-Caballero, C. (2020). Pesticide bioremediation in liquid media using a microbial consortium and bacteria-pure strains isolated from a biomixture used in agricultural areas. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 200, 110734. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110734>
- González Ortega, E., y Fuentes Ponce, M. H. (2022). DINÁMICA DEL GLIFOSATO EN EL SUELO Y SUS EFECTOS EN LA MICROBIOTA. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 38, 127–144. <https://doi.org/10.20937/RICA.54197>
- González-Rivera, E. (2023). *CARACTERIZACIÓN GENÓMICA Y FUNCIONAL DE BACTERIAS HIDROCARBONOCLÁSTICAS PARA LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CO-CONTAMINADOS EN ESCALA PILOTO*.
- Gowtham, H. G., Hema, P., Murali, M., Shilpa, N., Nataraj, K., Basavaraj, G. L., Singh, S. B., Aiyaz, M., Udayashankar, A. C., y Amruthesh, K. N. (2024). Fungal Endophytes as Mitigators against Biotic and Abiotic Stresses in Crop Plants. *Journal of Fungi*, 10(2), 116. <https://doi.org/10.3390/jof10020116>
- Grandcoin, A., Piel, S., y Baurès, E. (2017). AminoMethylPhosphonic acid (AMPA) in natural waters: Its sources, behavior and environmental fate. *Water Research*, 117, 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.055>
- Guo, T., Lou, C., Zhai, W., Tang, X., Hashmi, M. Z., Murtaza, R., Li, Y., Liu, X., y Xu, J. (2018). Increased occurrence of heavy metals, antibiotics and resistance genes in surface soil after long-term application of manure. *Science of The Total Environment*, 635, 995–1003. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.194>
- Guzman-Mellado, V. (2022). *Interacciones antagonistas entre Bacillus spp. de una comunidad sintética modelo de Cuatrociégenas, Coahuila*.
- Halwachs, S., Schäfer, I., Kneuer, C., Seibel, P., y Honscha, W. (2016). Assessment of ABCG2-mediated transport of pesticides across the rabbit placenta barrier using a novel MDCKII in vitro model. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 305, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.06.007>
- Hamada, M. A., y Soliman, E. R. S. (2023). Characterization and genomics identification of key genes involved in denitrification-DNRA-nitrification pathway of plant growth-promoting rhizobacteria (*Serratia marcescens* OK482790). *BMC Microbiology*, 23(1), 210. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02941-7>
- Hanke, I., Singer, H., y Hollender, J. (2008). Ultratrace-level determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid and glufosinate in natural waters by solid-phase extraction followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry: performance tuning of derivatization, enrichment and detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(6), 2265–2276. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2134-5>
- Hashimoto, Fukui, Hayano, y Hayatsu. (2002). Nucleotide sequence and genetic structure of a novel carbaryl hydrolase gene (*cehA*) from *Rhizobium* sp. strain AC100. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3), 1220–1227. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.3.1220-1227.2002>
- Heir, E., Sundheim, G., y Holck, A. L. (1999). The *qacG* gene on plasmid pST94 confers resistance to quaternary ammonium compounds in staphylococci isolated from the food industry.

Journal of Applied Microbiology, 86(3), 378–388. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00672.x>

- Hembach, N., Drechsel, V., Sobol, M., Kaster, A.-K., Köhler, H.-R., Triebkorn, R., y Schwartz, T. (2024). Effect of glyphosate, its metabolite AMPA, and the glyphosate formulation Roundup® on brown trout (*Salmo trutta f. fario*) gut microbiome diversity. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1271983>
- Hernández Guijarro, K., De Gerónimo, E., y Erijman, L. (2021). Glyphosate Biodegradation Potential in Soil Based on Glycine Oxidase Gene (thiO) from *Bradyrhizobium*. *Current Microbiology*, 78(5), 1991–2000. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02467-z>
- Hernández, M., Quijada, N. M., Rodríguez-Lázaro, D., y Eiros, J. M. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.06.003>
- Hindersah, R., Condrosari, P., Komarya, A., Suryatmana, P., Mulyani, O., y Haryadi, H. R. (2021). Role of soil bacterial consortia on glyphosate degradation and growth of maize seedlings. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 8(2), 2569–2575. <https://doi.org/10.15243/jdmlm.2021.082.2569>
- Hintz, W. (2007). Development of *Chondrostereum purpureum* as a mycoherbicide for deciduous brush control. In *Biological control: a global perspective* (pp. 284–290). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845932657.0284>
- Hoeflinger, J. L., y Miller, M. J. (2017). *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544 Autoaggregation Requires FliC Flagellation, Not Motility. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00301>
- Hove-Jensen, B., McSorley, F. R., y Zechel, D. L. (2011). Physiological Role of *phnP*-specified Phosphoribosyl Cyclic Phosphodiesterase in Catabolism of Organophosphonic Acids by the Carbon–Phosphorus Lyase Pathway. *Journal of the American Chemical Society*, 133(10), 3617–3624. <https://doi.org/10.1021/ja1102713>
- Hove-Jensen, B., Rosenkrantz, T. J., Zechel, D. L., y Willemoës, M. (2010). Accumulation of Intermediates of the Carbon-Phosphorus Lyase Pathway for Phosphonate Degradation in *phn* Mutants of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 192(1), 370–374. <https://doi.org/10.1128/JB.01131-09>
- Hove-Jensen, B., Zechel, D. L., y Jochimsen, B. (2014). Utilization of Glyphosate as Phosphate Source: Biochemistry and Genetics of Bacterial Carbon-Phosphorus Lyase. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(1), 176–197. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00040-13>
- Hui, Huishan, Lisheng, Yanmei, Xinghui, Zhang, L., y Chen, S. (2018). Kinetics and Novel Degradation Pathway of Permethrin in *Acinetobacter baumannii* ZH-14. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00098>
- Hui, Yanmei, Xinghui, y Shaohua. (2018). Recent advances in glyphosate biodegradation. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 102, Issue 12, pp. 5033–5043). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9035-0>
- IARC. (2016). *QyA on Glyphosate*.
- Imaizumi, S., Honda, M., y Fujimori, T. (1999). Effect of Temperature on the Control of Annual

- Bluegrass (*Poa annua* L.) with *Xanthomonas campestris* pv. *poae* (JT-P482). *Biological Control*, 16(1), 13–17. <https://doi.org/10.1006/bcon.1999.0728>
- Iori, S., Rovere, G. D., Ezzat, L., Smits, M., Ferraresso, S. S., Babbucci, M., Marin, M. G., Masiero, L., Fabrello, J., Garro, E., Carraro, L., Cardazzo, B., Patarnello, T., Matozzo, V., Bargelloni, L., y Milan, M. (2020). The effects of glyphosate and AMPA on the mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and its microbiota. *Environmental Research*, 182, 108984. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108984>
- IRAC. (2024). *Clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas incluyendo nematocidas*.
- Iturbe-Arguelles, R. (2010). *¿Qué es la biorremediación?*
- Jacob, G. S., Garbow, J. R., Hallas, L. E., Kimack, N. M., Kishore, G. M., y Schaefer, J. (1988). Metabolism of glyphosate in *Pseudomonas* sp. strain LBr. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(12), 2953–2958. <https://doi.org/10.1128/aem.54.12.2953-2958.1988>
- Jacques, R. J. S., Okeke, B. C., Bento, F. M., Teixeira, A. S., Peralba, M. C. R., y Camargo, F. A. O. (2008). Microbial consortium bioaugmentation of a polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil. *Bioresource Technology*, 99(7), 2637–2643. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.047>
- Jia, L., Kosgey, J. C., Wang, J., Yang, J., Nyamao, R. M., Zhao, Y., Teng, X., Gao, L., Wabo, M. C., Vasilyeva, N. V., Fang, Y., y Zhang, F. (2020). Antimicrobial and mechanism of antagonistic activity of *Bacillus* sp. A2 against pathogenic fungus and bacteria: The implication on honey's regulatory mechanism on host's microbiota. *Food Science y Nutrition*, 8(9), 4857–4867. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1770>
- Jiangpeng, Xiuping, Chunyi, Xiaoping, Lulin, Zixu, Zhao, L., Du, Q., Xiao, W., Sun, J., y Wang, J. (2023). Single-cell transcriptome analysis reveals liver injury induced by glyphosate in mice. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 28(1). <https://doi.org/10.1186/s11658-023-00426-z>
- JICA. (2010). *Guía del Manejo Integrado de Plagas (MIP) para técnicos y productores*.
- Jin, Q., y Kirk, M. F. (2018). pH as a Primary Control in Environmental Microbiology: 1. Thermodynamic Perspective. *Frontiers in Environmental Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00021>
- Jochimsen, B., Lolle, S., McSorley, F. R., Nabi, M., Stougaard, J., Zechel, D. L., y Hove-Jensen, B. (2011a). Five phosphonate operon gene products as components of a multi-subunit complex of the carbon-phosphorus lyase pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(28), 11393–11398. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104922108>
- Jochimsen, B., Lolle, S., McSorley, F. R., Nabi, M., Stougaard, J., Zechel, D. L., y Hove-Jensen, B. (2011b). Five phosphonate operon gene products as components of a multi-subunit complex of the carbon-phosphorus lyase pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(28), 11393–11398. <https://doi.org/10.1073/pnas.1104922108>
- Johal, y Huber. (2009). Glyphosate effects on diseases of plants. *European Journal of Agronomy*, 31(3), 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.04.004>

- Julieta-Salazar, N., y Aldana-Madrid, M. L. (2011). *HERBICIDA GLIFOSATO: USOS, TOXICIDAD Y REGULACIÓN*. www.beyondpesticides.org
- Kaboli Kafshgiri, S., Farkhondeh, T., y Miri-Moghaddam, E. (2022). Glyphosate effects on the female reproductive systems: a systematic review. *Reviews on Environmental Health*, 37(4), 487–500. <https://doi.org/10.1515/reveh-2021-0029>
- Kaczewer, J. 2002. (2002). *TOXICOLOGÍA DEL GLIFOSATO: RIESGOS PARA LA SALUD HUMANA*. www.produccion-animal.com.ar
- Kahle, M., Appelgren, S., Elofsson, A., Carroni, M., y Ädelroth, P. (2023). Insights into the structure-function relationship of the NorQ/NorD chaperones from *Paracoccus denitrificans* reveal shared principles of interacting MoxR AAA+/VWA domain proteins. *BMC Biology*, 21(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12915-023-01546-w>
- Kanehisa, M. (2000). KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 27–30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>
- Kanehisa, M. (2019). Toward understanding the origin and evolution of cellular organisms. *Protein Science*, 28(11), 1947–1951. <https://doi.org/10.1002/pro.3715>
- Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Kawashima, M., y Ishiguro-Watanabe, M. (2023). KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D587–D592. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac963>
- Kang, S.-M., Radhakrishnan, R., Khan, A. L., Kim, M.-J., Park, J.-M., Kim, B.-R., Shin, D.-H., y Lee, I.-J. (2014). Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 84, 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.09.001>
- Kanz, C. (2004). The EMBL Nucleotide Sequence Database. *Nucleic Acids Research*, 33(Database issue), D29–D33. <https://doi.org/10.1093/nar/gki098>
- Kaushal, M. (2019). Portraying Rhizobacterial Mechanisms in Drought Tolerance. In *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture* (pp. 195–216). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815879-1.00010-0>
- Kazama, H., Hamashima, H., Sasatsu, M., y Arai, T. (1999). Characterization of the antiseptic-resistance gene qacE delta 1 isolated from clinical and environmental isolates of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae* non-O1. *FEMS Microbiology Letters*, 174(2), 379–384. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13593.x>
- Kenney, D. S. (1986). DeVine[®] —The Way It Was Developed—An Industrialist's View. *Weed Science*, 34(S1), 15–16. <https://doi.org/10.1017/S0043174500068302>
- Khabthani, S., Hamel, M., Baron, S. A., Diene, S. M., Rolain, J.-M., y Merhej, V. (2021). fosM, a New Family of Fosfomycin Resistance Genes Identified in Bacterial Species Isolated from Human Microbiota. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(2). <https://doi.org/10.1128/AAC.01712-20>
- Khaleel Mousa, N., Ali, A.-J., y Hussein, M. (2022). *Bacillus megaterium* Biodegradation Glyphosate. In *Biodegradation Technology of Organic and Inorganic Pollutants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96919>

- Kishore, G. M., y Jacob, G. S. (1987). Degradation of glyphosate by *Pseudomonas* sp. PG2982 via a sarcosine intermediate. *Journal of Biological Chemistry*, 262(25), 12164–12168. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)45331-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)45331-8)
- Knapp, J. S., y Bromley-Challoner, K. C. A. (2003). Recalcitrant organic compounds. In *Handbook of Water and Wastewater Microbiology* (pp. 559–595). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012470100-7/50035-2>
- Kogan, M., y Alister, C. (2013). *Glyphosate Soil Dynamic and its Potential Activity by Roots Absorption*.
- Koor Agro. (2020). *GLIFOGAN 480 LS*.
- Kropp, B. R., Hansen, D. R., y Thomson, S. V. (2002). Establishment and Dispersal of *Puccinia thlaspeos* in Field Populations of Dyer's Woad. *Plant Disease*, 86(3), 241–246. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.3.241>
- Kubiak, A., Wolna-Maruwka, A., Niewiadomska, A., y Pilarska, A. A. (2022). The Problem of Weed Infestation of Agricultural Plantations vs. the Assumptions of the European Biodiversity Strategy. *Agronomy*, 12(8), 1808. <https://doi.org/10.3390/agronomy12081808>
- Kulakova, A. N., Kulakov, L. A., Akulenko, N. V., Ksenzenko, V. N., Hamilton, J. T. G., y Quinn, J. P. (2001). Structural and Functional Analysis of the Phosphonoacetate Hydrolase (*phnA*) Gene Region in *Pseudomonas fluorescens* 23F. *Journal of Bacteriology*, 183(11), 3268–3275. <https://doi.org/10.1128/JB.183.11.3268-3275.2001>
- Kumar, A., y Verma, J. P. (2019). *The Role of Microbes to Improve Crop Productivity and Soil Health* (pp. 249–265). https://doi.org/10.1007/978-981-13-0149-0_14
- Kumar, M. A., Vigneshwaran, G., Priya, M. E., Seenuvasan, M., Kumar, V. V., Anuradha, D., y Sivanesan, S. (2017). Concocted bacterial consortium for the detoxification and mineralization of azoic-cum-sulfonic textile mill effluent. *Journal of Water Process Engineering*, 16, 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.01.008>
- Kwiatkowska, M., Huras, B., y Bukowska, B. (2014). The effect of metabolites and impurities of glyphosate on human erythrocytes (in vitro). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 109, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.01.003>
- La Porta, N., Hietala, A. M., y Baldi, P. (2023). Bacterial diseases in forest trees. In *Forest Microbiology* (pp. 139–166). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18694-3.00001-8>
- Lai, L., Li, S., Zhang, S., Liu, M., Xia, L., Ren, Y., y Cui, T. (2024). Enhancing Benzo[a]pyrene Degradation by *Pantoea dispersa* MSC14 through Biostimulation with Sodium Gluconate: Insights into Mechanisms and Molecular Regulation. *Microorganisms*, 12(3), 592. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030592>
- Lanafil. (2019). *Coloso Total 360® Herbicida/ Líquido Soluble*.
- Lanafil. (2020). *GLYFOSOL MAX 88.8*.
- Laslett. (2004). ARAGORN, a program to detect tRNA genes and tmRNA genes in nucleotide sequences. *Nucleic Acids Research*, 32(1), 11–16. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh152>
- Lee-Bazaldúa, E. (2019). *UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE*

CIENCIAS QUÍMICAS TESIS VÍA PARA LA RESOLUCIÓN DE LA PARADOJA DEL METANO OCEÁNICO: PRODUCCIÓN AERÓBICA CONSTITUTIVA DE METANO POR LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA C-P LIASA DESREGULADA DE LA BACTERIA MARINA *Roseovarius nubinhibens*.

- León-Medina, V. (2023). *EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DEGRADADORA DE GLIFOSATO Y ÁCIDO AMINOMETILFOSFÓNICO (AMPA) DE BACTERIAS AISLADAS DE SUELO AGRÍCOLA*. UAS.
- Leyva-Morales, García de la Parra, y Astorga-Rodríguez. (2014). Uso de plaguicidas en un valle agrícola tecnificado en el noroeste de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 247–261.
- Leyva-Morales, García de la Parra, y Martínez-Rodríguez. (2014). *Implicaciones toxicológicas del uso de plaguicidas en un valle agrícola del noroeste de México* (2nd ed., Vol. 30). Revista Internacional de Contaminación Ambiental.
- Leyva-Soto, L., Balderrama-Carmona, A. P., Moran-Palacio, E. F., Diaz-Tenorio, L. M., y Gortares-Moroyoqui, P. (2018). GLYPHOSATE AND AMINOMETHYLPHOSPHONIC ACID IN POPULATION OF AGRICULTURAL FIELDS: HEALTH RISK ASSESSMENT OVERVIEW. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(4), 5127–5140. https://doi.org/10.15666/aeer/1604_51275140
- Li, X.-Z., Zhang, L., y Poole, K. (2002). SmeC, an outer membrane multidrug efflux protein of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(2), 333–343. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.2.333-343.2002>
- Liang, Y., Wei, D., Hu, J., Zhang, J., Liu, Z., Li, A., y Li, R. (2020). Glyphosate and nutrients removal from simulated agricultural runoff in a pilot pyrrhotite constructed wetland. *Water Research*, 168, 115154. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115154>
- Lin, Z., Pang, S., Zhang, W., Mishra, S., Bhatt, P., y Chen, S. (2020). Degradation of Acephate and Its Intermediate Methamidophos: Mechanisms and Biochemical Pathways. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02045>
- Little, N. G., Ditommaso, A., Westbrook, A. S., Ketterings, Q. M., y Mohler, C. L. (2021). Effects of fertility amendments on weed growth and weed-crop competition: A review. In *Weed Science* (Vol. 69, Issue 2, pp. 132–146). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/wsc.2021.1>
- LIU, F., y CAO, Y. (2018). Expression of a bacterial *aroA* gene confers tolerance to glyphosate in tobacco plants. *TURKISH JOURNAL OF BIOLOGY*, 42(2). <https://doi.org/10.3906/biy-1712-56>
- Liu, J., Dong, C., Zhai, Z., Tang, L., y Wang, L. (2021). Glyphosate-induced lipid metabolism disorder contributes to hepatotoxicity in juvenile common carp. *Environmental Pollution*, 269, 116186. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116186>
- Lomovskaya, O., Lewis, K., y Matin, A. (1995). EmrR is a negative regulator of the *Escherichia coli* multidrug resistance pump EmrAB. *Journal of Bacteriology*, 177(9), 2328–2334. <https://doi.org/10.1128/jb.177.9.2328-2334.1995>
- Lopes, M. J. dos S., Dias-Filho, M. B., y Gurgel, E. S. C. (2021). Successful Plant Growth-

- Promoting Microbes: Inoculation Methods and Abiotic Factors. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.606454>
- Lopez, Marin, y Prieto. (2002). *Bases de la fisiología* (Vol. 36). Tebar. España.
- Lowe, y Chan. (2016). tRNAscan-SE On-line: integrating search and context for analysis of transfer RNA genes. *Nucleic Acids Research*, 44(W1), W54–W57. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw413>
- Lu, J., Wang, W., Zhang, C., Xu, W., Chen, W., Tao, L., Li, Z., Cheng, J., y Zhang, Y. (2022). Characterization of glyphosate-induced cardiovascular toxicity and apoptosis in zebrafish. *Science of The Total Environment*, 851, 158308. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158308>
- Macchi, M. (2018). *Desarrollo de consorcios bacterianos con alta eficiencia de degradación de PAH para su aplicación a la recuperación de suelos crónicamente contaminados* [Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/66553>
- Mamy, L., Barriuso, E., y Gabrielle, B. (2005). Environmental fate of herbicides trifluralin, metazachlor, metamitron and sulcotrione compared with that of glyphosate, a substitute broad spectrum herbicide for different glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science*, 61(9), 905–916. <https://doi.org/10.1002/ps.1108>
- Manogaran, M., Shukor, M. Y., Yasid, N. A., Johari, W. L. W., y Ahmad, S. A. (2017a). Isolation and characterisation of glyphosate-degrading bacteria isolated from local soils in Malaysia. *Rendiconti Lincei*, 28(3), 471–479. <https://doi.org/10.1007/s12210-017-0620-4>
- Manogaran, Shukor, Yasid, Johari, y Ahmad. (2017b). Isolation and characterisation of glyphosate-degrading bacteria isolated from local soils in Malaysia. *Rendiconti Lincei*, 28(3), 471–479. <https://doi.org/10.1007/s12210-017-0620-4>
- María Gagneten, A., Reno, U., Regaldo, L., Roldán, S., y Enrique, S. (2014). *Effects of herbicide Ron-do® on Cerodaphnia reticulata (crustacea, cladocera) and degradability of glyphosate (n-phosphomethylglycine) under experimental conditions*.
- Marques, J. G. de C., Veríssimo, K. J. da S., Fernandes, B. S., Ferreira, S. R. de M., Montenegro, S. M. G. L., y Motteran, F. (2021). Glyphosate: A Review on the Current Environmental Impacts from a Brazilian Perspective. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 107(3), 385–397. <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03295-4>
- Márquez, C., Labbate, M., Raymondo, C., Fernández, J., Gestal, A. M., Holley, M., Borthagaray, G., y Stokes, H. W. (2008). Urinary tract infections in a South American population: dynamic spread of class 1 integrons and multidrug resistance by homologous and site-specific recombination. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(10), 3417–3425. <https://doi.org/10.1128/JCM.00835-08>
- Martinez, A., Tyson, G. W., y DeLong, E. F. (2010a). Widespread known and novel phosphonate utilization pathways in marine bacteria revealed by functional screening and metagenomic analyses. *Environmental Microbiology*, 12(1), 222–238. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02062.x>
- Martinez, A., Tyson, G. W., y DeLong, E. F. (2010b). Widespread known and novel phosphonate utilization pathways in marine bacteria revealed by functional screening and metagenomic

analyses. *Environmental Microbiology*, 12(1), 222–238. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02062.x>

- Martínez-Ledezma, C. (2019). *DEGRADACIÓN DE GLIFOSATO POR UN SISTEMA ALTERNATIVO A LA C-P LIASA INDEPENDIENTE DE LOS NIVELES DE FOSFATO PRODUCIDO POR BACILLUS CEREUS 6P NATIVA DE NUEVO LEÓN*. Nuevo León, México.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G., y Mora, M. L. (2010). MECHANISMS AND PRACTICAL CONSIDERATIONS INVOLVED IN PLANT GROWTH PROMOTION BY RHIZOBACTERIA. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(3). <https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000100006>
- Massot, F., Gkorezis, P., Van Hamme, J., Marino, D., Trifunovic, B. S., Vukovic, G., d’Haen, J., Pintelon, I., Giulietti, A. M., Merini, L., Vangronsvelt, J., y Thijs, S. (2021a). Isolation, Biochemical and Genomic Characterization of Glyphosate Tolerant Bacteria to Perform Microbe-Assisted Phytoremediation. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.598507>
- Massot, F., Gkorezis, P., Van Hamme, J., Marino, D., Trifunovic, B. S., Vukovic, G., d’Haen, J., Pintelon, I., Giulietti, A. M., Merini, L., Vangronsvelt, J., y Thijs, S. (2021b). Isolation, Biochemical and Genomic Characterization of Glyphosate Tolerant Bacteria to Perform Microbe-Assisted Phytoremediation. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.598507>
- McSorley, F. R., Wyatt, P. B., Martinez, A., DeLong, E. F., Hove-Jensen, B., y Zechel, D. L. (2012). PhnY and PhnZ Comprise a New Oxidative Pathway for Enzymatic Cleavage of a Carbon–Phosphorus Bond. *Journal of the American Chemical Society*, 134(20), 8364–8367. <https://doi.org/10.1021/ja302072f>
- Medema, M. H., Blin, K., Cimermancic, P., de Jager, V., Zakrzewski, P., Fischbach, M. A., Weber, T., Takano, E., y Breitling, R. (2011). antiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences. *Nucleic Acids Research*, 39(suppl_2), W339–W346. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr466>
- Mesnage, R., Bernay, B., y Séralini, G.-E. (2013). Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology*, 313(2–3), 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.09.006>
- Metcalf, W. W., y Wanner, B. L. (1993). Evidence for a fourteen-gene, phnC to phnP locus for phosphonate metabolism in *Escherichia coli*. *Gene*, 129(1), 27–32. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(93\)90692-V](https://doi.org/10.1016/0378-1119(93)90692-V)
- Mikheenko, A., Prjibelski, A., Saveliev, V., Antipov, D., y Gurevich, A. (2018). Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG. *Bioinformatics*, 34(13), i142–i150. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty266>
- Mishra, J., Fatima, T., y Arora, N. K. (2018). *Role of Secondary Metabolites from Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Combating Salinity Stress* (pp. 127–163). https://doi.org/10.1007/978-981-10-5514-0_6
- Moller, S. R., Wallace, A. F., Zahir, R., Quadery, A., y Jaisi, D. P. (2024). Effect of temperature

- on the degradation of glyphosate by Mn-oxide: Products and pathways of degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 461, 132467. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132467>
- Moneke, A., Okpala, G., Anyanwu, C., Moneke, A. N., Okpala, G. N., y Anyanwu, C. U. (2010). Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using bacterial isolates from four rice fields. *Article in AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 106(26), 4067–4074. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Monge, P., Wesseling, C., Guardado, J., Lundberg, I., Ahlbom, A., Cantor, K. P., Weiderpass, E., y Partanen, T. (2007). Parental occupational exposure to pesticides and the risk of childhood leukemia in Costa Rica. *Scandinavian Journal of Work, Environment y Health*, 33(4), 293–303. <https://doi.org/10.5271/sjweh.1146>
- Morales-Zepeda. (2007). *El impacto de la biotecnología en la formación de redes institucionales en el sector hortofrutícola de Sinaloa, México* [Tesis de doctorado]. Universidad de Barcelona.
- Morin, L. (2020). Progress in Biological Control of Weeds with Plant Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 58(1), 201–223. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-010820-012823>
- Morris, M. J., Wood, A. R., y Den Breeyen, A. (2016). *Plant pathogens and biological control of weeds in South Africa: A review of projects and progress during the last decade*. <https://www.researchgate.net/publication/284422895>
- Motharasan, Van Tam, Phong, Nguyen, H., y Kiefer, R. (2021). *Isolation and optimization of a glyphosate-degrading Rhodococcus soli G41 for bioremediation*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1048844/v1>
- Moulick, D., Choudhury, S., Brestic, M., y Hossain, A. (2024). Editorial: The impact of abiotic stresses on agriculture: mitigation through climate smart strategies. *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1391051>
- Mrozik, y Piotrowska-Seget, Z. (2010). Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds. *Microbiological Research*, 165(5), 363–375. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.08.001>
- Mula. (2012). *Guía de uso de los aminoácidos en las plantas*. Agromática.
- Muturi, E. J., Donthu, R. K., Fields, C. J., Moise, I. K., y Kim, C.-H. (2017). Effect of pesticides on microbial communities in container aquatic habitats. *Scientific Reports*, 7(1), 44565. <https://doi.org/10.1038/srep44565>
- Nishino, K., Senda, Y., y Yamaguchi, A. (2008). CRP regulator modulates multidrug resistance of *Escherichia coli* by repressing the *mdtEF* multidrug efflux genes. *The Journal of Antibiotics*, 61(3), 120–127. <https://doi.org/10.1038/ja.2008.120>
- Nishino, K., y Yamaguchi, A. (2004). Role of histone-like protein H-NS in multidrug resistance of *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 186(5), 1423–1429. <https://doi.org/10.1128/JB.186.5.1423-1429.2004>
- Nourouzi, M. M., Chuah, T. G., Choong, T. S. Y., y Lim, C. J. (2011). Glyphosate Utilization as the Source of Carbon: Isolation and Identification of new Bacteria. *E-Journal of Chemistry*, 8(4), 1582–1587. <https://doi.org/10.1155/2011/614109>

- O'Brien, J. A., Vega, A., Bouguyon, E., Krouk, G., Gojon, A., Coruzzi, G., y Gutiérrez, R. A. (2016). Nitrate Transport, Sensing, and Responses in Plants. *Molecular Plant*, 9(6), 837–856. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.05.004>
- OERKE, E.-C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31–43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
- Olawale, Adentuji, y Kolawole. (2011). *Biodegradation of Glyphosate Pesticide by Bacteria isolated from Agricultural Soil*. <http://www.sciencepub.net/report>
- ONU. (2013, August 6). *FAO llama a acelerar la eliminación de los plaguicidas peligrosos en América Latina*.
- Ortiz-Pérez, Bocanegra, Mendoza-Herrera, y Cruz-Hernández, M. A. (2019). Identificación de cepas bacterianas tolerantes a pesticidas aisladas de suelos agrícolas. *Mexican Journal of Biotechnology*, 4(3), 57–66. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.3.57>
- Ortiz-Pérez, E. L., Bocanegra-García, V., Mendoza-Herrera, A., y Cruz-Hernández, M. A. (2019a). Identificación de cepas bacterianas tolerantes a pesticidas aisladas de suelos agrícolas. *Mexican Journal of Biotechnology*, 4(3), 57–66. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.3.57>
- Ortiz-Pérez, E. L., Bocanegra-García, V., Mendoza-Herrera, A., y Cruz-Hernández, M. A. (2019b). Identificación de cepas bacterianas tolerantes a pesticidas aisladas de suelos agrícolas. *Mexican Journal of Biotechnology*, 4(3), 57–66. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.3.57>
- Osorio. (2022, December 21). *Biorremediación: qué es, tipos y ejemplos*. Bioenciclopedia. <https://www.bioenciclopedia.com/biorremediacion-que-es-tipos-y-ejemplos-769.html>
- Ouafa, Ouided, y Sana. (2022). Insights into the genome sequence of the glyphosate-degrading bacterium *Enterobacter* sp. Bisph1. *Biodiversitas*, 23(2), 817–882. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230228>
- Palma-Guerrero, J., Chancellor, T., Spong, J., Canning, G., Hammond, J., McMillan, V. E., y Hammond-Kosack, K. E. (2021). Take-All Disease: New Insights into an Important Wheat Root Pathogen. *Trends in Plant Science*, 26(8), 836–848. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.02.009>
- Pedrini, N. (2022). The Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* Shows Its Toxic Side within Insects: Expression of Genes Encoding Secondary Metabolites during Pathogenesis. *Journal of Fungi*, 8(5), 488. <https://doi.org/10.3390/jof8050488>
- Peerzada, A. M. (2017). Biology, agricultural impact, and management of *Cyperus rotundus* L.: the world's most tenacious weed. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(12), 270. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2574-7>
- Peñaloza-Vazquez, A., Mena, G. L., Herrera-Estrella, L., y Bailey, A. M. (1995). Cloning and sequencing of the genes involved in glyphosate utilization by *Pseudomonas pseudomallei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(2), 538–543. <https://doi.org/10.1128/aem.61.2.538-543.1995>
- Peralta, C., Giancola, S., Lombardo, E., Mika, R., y Soledad Carbajo, M. (2021). *Introducción al manejo integrado de plagas, monitoreo de plagas en cítricos y fenología del cultivo*. www.fontagro.org
- Pérez González, E. (2014). *Estudio de la ruta de shikimato en Trichoderma parareesei, su papel*

en el antagonismo del hongo y en las relaciones que establece con la planta [Universidad de Salamanca]. <https://doi.org/10.14201/gredos.127848>

- Pessi, G., Williams, F., Hindle, Z., Heurlier, K., Holden, M. T., Cámara, M., Haas, D., y Williams, P. (2001). The global posttranscriptional regulator RsmA modulates production of virulence determinants and N-acylhomoserine lactones in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 183(22), 6676–6683. <https://doi.org/10.1128/JB.183.22.6676-6683.2001>
- Pesticide Action Network International. (2016). *PAN International List of Highly Hazardous Pesticides*.
- Phatak, S. C., Sumner, D. R., Wells, H. D., Bell, D. K., y Glaze, N. C. (1983). Biological Control of Yellow Nutsedge with the Indigenous Rust Fungus *Puccinia canaliculata*. *Science*, 219(4591), 1446–1447. <https://doi.org/10.1126/science.219.4591.1446>
- PIPKER, R., AMRHEIN, N., JACOB, G. S., SCHAEFER, J., y KISHORE, G. M. (1987). Metabolism of glyphosate in an *Arthrobacter* sp. GLP-1. *European Journal of Biochemistry*, 165(2), 267–273. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1987.tb11437.x>
- Pollegioni, L., Schonbrunn, E., y Siehl, D. (2011). Molecular basis of glyphosate resistance – different approaches through protein engineering. *The FEBS Journal*, 278(16), 2753–2766. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2011.08214.x>
- Poole, K. (2004). Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 10(1), 12–26. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.00763.x>
- Powles, S. (2014). Global Herbicide Resistance Challenge. *Pest Management Science*, 70(9), 1305–1305. <https://doi.org/10.1002/ps.3808>
- Prjibelski, A., Antipov, D., Meleshko, D., Lapidus, A., y Korobeynikov, A. (2020). Using SPAdes De Novo Assembler. *Current Protocols in Bioinformatics*, 70(1). <https://doi.org/10.1002/cpbi.102>
- Quezada. (1985). *El Control Biológico Natural, un Recurso para la Agricultura*.
- Radosevich, S. R., Holt, J. S., y Ghersa, C. M. (2007). *Ecology of Weeds and Invasive Plants*. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470168943>
- Rahayu, Y. S. (2005). Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO₃--induced stimulation of leaf growth. *Journal of Experimental Botany*, 56(414), 1143–1152. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri107>
- Rainbow Agrosiences S.A.S. (2020). *RAINBOW GLIFOSATO 41 SL*. Registro ICA No. 1608.
- RAPAL. (2011, February 11). *Brasil prohibió la venta del plaguicida metamidofós*.
- Ratzke, C., y Gore, J. (2018). Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. *PLOS Biology*, 16(3), e2004248. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2004248>
- Reaves, M. E. (2022). *OFFICE OF CHEMICAL SAFETY AND POLLUTION PREVENTION*. <https://www.epa.gov/endangered-species/final-national-level-listed-species-biological->
- Rendon-von Osten, J., y Dzul-Caamal, R. (2017). Glyphosate Residues in Groundwater, Drinking Water and Urine of Subsistence Farmers from Intensive Agriculture Localities: A Survey in

- Hopelchén, Campeche, Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(6), 595. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060595>
- Reuben, Chung Yen, Shu Hwa, Kai Jiun, Chi Te, Tzu Ho, y Shih, Y. hsin. (2019). Using high-throughput transcriptome sequencing to investigate the biotransformation mechanism of hexabromocyclododecane with *Rhodopseudomonas palustris* in water. *Science of the Total Environment*, 692, 249–258. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.140>
- Reyes, C. L., Ward, A., Yu, J., y Chang, G. (2006). The structures of MsbA: Insight into ABC transporter-mediated multidrug efflux. *FEBS Letters*, 580(4), 1042–1048. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.11.033>
- Rodrigues, N. R., y de Souza, A. P. F. (2018). Occurrence of glyphosate and AMPA residues in soy-based infant formula sold in Brazil. *Food Additives y Contaminants : Part A*, 35(4), 724–731. <https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1419286>
- Rossi, F., Carles, L., Donnadieu, F., Batisson, I., y Artigas, J. (2021). Glyphosate-degrading behavior of five bacterial strains isolated from stream biofilms. *Journal of Hazardous Materials*, 420, 126651. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126651>
- Rousidou, Chanika, Georgiadou, Soueref, Katsarou, Kolovos, Ntougias, Tourn, M., Tzortzakakis, E. A., y Karpouzias, D. G. (2016). Isolation of oxamyl-degrading bacteria and identification of *cehA* as a novel oxamyl hydrolase gene. *Frontiers in Microbiology*, 7(APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00616>
- Roy, V., Dubeau, D., y Auger, I. (2010). Biological control of intolerant hardwood competition: Silvicultural efficacy of *Chondrostereum purpureum* and worker productivity in conifer plantations. *Forest Ecology and Management*, 259(8), 1571–1579. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.01.033>
- Sadiqa, Samina, y Samina. (2020). Optimization and modeling of glyphosate biodegradation by a novel *Comamonas odontotermitis* P2 through response surface methodology. *Pedosphere*, 30(5), 618–627. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60381-3](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60381-3)
- Santoyo-Tepole, F., Andrés Alanís-Sandoval, R., López-Mejía, R., Juárez-Ramírez, C., Ruiz-Ordaz, N., y Galíndez-Mayer, J. (2020). *DEGRADATION OF GLYPHOSATE BY A MICROBIAL COMMUNITY ISOLATED FROM AN AGRICULTURAL SOIL TREATED WITH THE HERBICIDE*.
- Savini, S., Bandini, M., y Sannino, A. (2019). An Improved, Rapid, and Sensitive Ultra-High-Performance Liquid Chromatography-High-Resolution Orbitrap Mass Spectrometry Analysis for the Determination of Highly Polar Pesticides and Contaminants in Processed Fruits and Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(9), 2716–2722. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06483>
- Schonbeck, M. (2012, September 12). *Weed Profile: Pigweeds (Amaranthus spp.)*.
- Schwengers, O., Jelonek, L., Dieckmann, M. A., Beyvers, S., Blom, J., y Goesmann, A. (2021). Bakta: rapid and standardized annotation of bacterial genomes via alignment-free sequence identification. *Microbial Genomics*, 7(11). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000685>
- Seeman, T. (2020, March 27). *ABRicate*. <https://github.com/tseemann/abricate>
- Sen, Y., van der Wolf, J., Visser, R. G. F., y van Heusden, S. (2015). Bacterial Canker of Tomato:

- Current Knowledge of Detection, Management, Resistance, and Interactions. *Plant Disease*, 99(1), 4–13. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0499-FE>
- Sergey V., Dmitry O., Alexey V., Tatyana V., Ermakova, I. T., y Leontievsky, A. A. (2020). Draft Genome Sequence of Glyphosate-Degrading *Achromobacter insolitus* Strain Kg 19 (VKM B-3295), Isolated from Agricultural Soil. *Microbiology Resource Announcements*, 9(17). <https://doi.org/10.1128/mra.00284-20>
- Sharma, L., Bohra, N., Rajput, V. D., Quiroz-Figueroa, F. R., Singh, R. K., y Marques, G. (2020). Advances in Entomopathogen Isolation: A Case of Bacteria and Fungi. *Microorganisms*, 9(1), 16. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010016>
- Shaw, W. (2017). Elevated Urinary Glyphosate and Clostridia Metabolites With Altered Dopamine Metabolism in Triplets With Autistic Spectrum Disorder or Suspected Seizure Disorder: A Case Study. *Integrative Medicine (Encinitas, Calif.)*, 16(1), 50–57.
- Shi, W., Lu, J., Feng, C., Gao, M., Li, A., Liu, S., Zhang, L., Zhang, X., Li, Q., Lin, H., Lin, X., Li, K., Zhang, H., Hu, Y., Wang, G., Bao, Q., y Jiang, W. (2022). Functional characterization of a novel aminoglycoside phosphotransferase, APH(9)-Ic, and its variant from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1097561. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1097561>
- Shushkova, T., Ermakova, I., y Leontievsky, A. (2010). Glyphosate bioavailability in soil. *Biodegradation*, 21(3), 403–410. <https://doi.org/10.1007/s10532-009-9310-y>
- SIAP. (2023). *Panorama Agroalimentario*.
- Siehl, D. L., Castle, L. A., Gorton, R., y Keenan, R. J. (2007). The Molecular Basis of Glyphosate Resistance by an Optimized Microbial Acetyltransferase. *Journal of Biological Chemistry*, 282(15), 11446–11455. <https://doi.org/10.1074/jbc.M610267200>
- Singh, S., Kumar, V., Datta, S., Wani, A. B., Dhanjal, D. S., Romero, R., y Singh, J. (2020). Glyphosate uptake, translocation, resistance emergence in crops, analytical monitoring, toxicity and degradation: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 18(3), 663–702. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-00969-z>
- Singh, y Singh. (2014). Microbial degradation of herbicides. *Critical Reviews in Microbiology*, 1–17. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.929564>
- Sobrero, M. S., Marsili, N. R., Schenone, A. V., Manzo, R., y Frisón, L. N. (2022). Degradación biológica de glifosato. *South Florida Journal of Environmental and Animal Science*, 2(2), 186–202. <https://doi.org/10.53499/sfjeasv2n2-015>
- Soto. (2022, August 15). *Factores bióticos y abióticos: ¿Cómo afectan mis cultivos?* Universidad de Maryland. <https://extensionesp.umd.edu/2022/08/15/factores-bioticos-y-abioticos-como-afectan-mis-cultivos/#:~:text=Los%20factores%20bi%C3%B3ticos%20corresponden%20a,par%C3%A1sitos%2C%20malezas%2C%20entre%20otros.>
- Srinivasan, V. B., y Rajamohan, G. (2013). KpnEF, a new member of the *Klebsiella pneumoniae* cell envelope stress response regulon, is an SMR-type efflux pump involved in broad-spectrum antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(9), 4449–4462. <https://doi.org/10.1128/AAC.02284-12>

- Sriram, R. (2020, February 20). *Biosurfactants: Production and Applications*. <https://www.kolabtree.com/blog/biosurfactants-production-and-applications>
- Stancu, M. M. (2020). Biosurfactant production by a *Bacillus megaterium* strain. *Open Life Sciences*, 15(1), 629–637. <https://doi.org/10.1515/biol-2020-0068>
- Statista Research Department. (2023, February 20). *Ranking de los principales países productores de hortalizas en América Latina en 2020*.
- Steed, S. T., Stamps, R. H., y Diaz, R. (2013). Uso Apropiado y Manipulación de Glifosato en Viveros de Plantas. *EDIS*, 2013(2). <https://doi.org/10.32473/edis-ep470-2013>
- Stewart-Wade, S. M., Green, S., Boland, G. J., Teshler, M. P., Teshler, I. B., Watson, A. K., Sampson, M. G., Patterson, K., DiTommaso, A., y Dupont, S. (2001a). *Taraxacum officinale* (Weber), dandelion (*Asteraceae*). In *Biological Control Programmes in Canada, 1981-2000* (pp. 427–430). CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851995274.0427>
- Stewart-Wade, S. M., Green, S., Boland, G. J., Teshler, M. P., Teshler, I. B., Watson, A. K., Sampson, M. G., Patterson, K., DiTommaso, A., y Dupont, S. (2001b). *Taraxacum officinale* (Weber), dandelion (*Asteraceae*). In *Biological Control Programmes in Canada, 1981-2000* (pp. 427–430). CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851995274.0427>
- Stow, P. R., Reitz, Z. L., Johnstone, T. C., y Butler, A. (2021). Genomics-driven discovery of chiral triscatechol siderophores with enantiomeric Fe(III) coordination. *Chemical Science*, 12(37), 12485–12493. <https://doi.org/10.1039/D1SC03541J>
- Su, L. Y., Dela Cruz, A., Moore, P. H., y Maretzki, A. (1992). The Relationship of Glyphosate Treatment to Sugar Metabolism in Sugarcane: New Physiological Insights. *Journal of Plant Physiology*, 140(2), 168–173. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)80929-6](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)80929-6)
- Székács, A., y Darvas, B. (2018). Re-registration Challenges of Glyphosate in the European Union. *Frontiers in Environmental Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00078>
- Tada, T., Miyoshi-Akiyama, T., Dahal, R. K., Mishra, S. K., Shimada, K., Ohara, H., Kirikae, T., y Pokhrel, B. M. (2014). Identification of a novel 6'-N-aminoglycoside acetyltransferase, AAC(6')-Iak, from a multidrug-resistant clinical isolate of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(10), 6324–6327. <https://doi.org/10.1128/AAC.03354-14>
- Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., y Sedykh, S. E. (2022). Bacterial Siderophores: Classification, Biosynthesis, Perspectives of Use in Agriculture. *Plants*, 11(22), 3065. <https://doi.org/10.3390/plants11223065>
- Torkar, K. G., y Bedenić, B. (2018). Antimicrobial susceptibility and characterization of metallo- β -lactamases, extended-spectrum β -lactamases, and carbapenemases of *Bacillus cereus* isolates. *Microbial Pathogenesis*, 118, 140–145. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.03.026>
- Trapnell, Roberts, Goff, Pertea, Kim, Kelley, Pimentel, H., Salzberg, S. L., Rinn, J. L., y Pachter, L. (2012). Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. *Nature Protocols*, 7(3), 562–578. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.016>
- UNAM. (2017). *¿Qué son los factores abióticos y bióticos?* Portal Académico.

<https://e1.portalacademico.cch.unam.mx/alumno/biologia2/unidad2/abioticosbioticos/queson>

- Upadhyay, J., Rana, M., Bisht, S. S., Rana, A., Durgapal, S., y Juyal, V. (2019). Biomarker responses (serum biochemistry) in pregnant female wistar rats and histopathology of their neonates exposed prenatally to pesticides. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902019000118194>
- Valdés-Machado. (2023). *AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE GLIFOSATO AISLADAS DE SUELOS AGRÍCOLAS CON POTENCIAL EN BIORREMEDIACIÓN* [Licenciatura]. Universidad Autónoma de Sinaloa. Sinaloa, México
- VanVolkenburg, H., Guinel, F. C., y Vasseur, L. (2020). Impacts of Smooth Pigweed (*Amaranthus hybridus*) on Cover Crops in Southern Ontario. *Agronomy*, 10(4), 529. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040529>
- Varona, Henao, y Díaz. (2009). Evaluación de los efectos del glifosato y otros plaguicidas en la salud humana en zonas objeto del programa de erradicación de cultivos ilícitos. In *Biomédica* (Vol. 29).
- Varona, M., Henao, G. L., Díaz, S., Lancheros, A., Murcia, Á., Rodríguez, N., y Álvarez, V. H. (2009). Evaluación de los efectos del glifosato y otros plaguicidas en la salud humana en zonas objeto del programa de erradicación de cultivos ilícitos. *Biomédica*, 29(3), 456. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i3.16>
- Vidal, E. A., y Gutiérrez, R. A. (2008). A systems view of nitrogen nutrient and metabolite responses in *Arabidopsis*. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(5), 521–529. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.07.003>
- Viera-Arroyo, Cristina Margarita, Aníbal Arturo, Daniel Fernando, Medina-Rivera, Delgado-Párraga, Perdomo-Quispe, Pincay-Verdezoto, Báez-Cevallos, Wilson Arturo, V.-C., y Trevor, J. (2020). *Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador*.
- Wang, J., Wang, L., Zhu, L., Wang, J., y Xing, B. (2022). Antibiotic resistance in agricultural soils: Source, fate, mechanism and attenuation strategy. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(6), 847–889. <https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1835438>
- Wick, R. R., Judd, L. M., Gorrie, C. L., y Holt, K. E. (2017). Unicycler: Resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. *PLOS Computational Biology*, 13(6), e1005595. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005595>
- Xiao, R., Huang, D., Du, L., Song, B., Yin, L., Chen, Y., Gao, L., Li, R., Huang, H., y Zeng, G. (2023). Antibiotic resistance in soil-plant systems: A review of the source, dissemination, influence factors, and potential exposure risks. *Science of The Total Environment*, 869, 161855. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161855>
- Yang, F., Gao, Y., Zhao, H., Li, J., Cheng, X., Meng, L., Dong, P., Yang, H., Chen, S., y Zhu, J. (2021). Revealing the distribution characteristics of antibiotic resistance genes and bacterial communities in animal-aerosol-human in a chicken farm: From One-Health perspective. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 224, 112687. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112687>

- Yusà, V., Sanchís, Y., Dualde, P., Carbonell, E., y Coscollà, C. (2021). Quick determination of Glyphosate and AMPA at sub $\mu\text{g/L}$ in drinking water by direct injection into LC-MS/MS. *Talanta Open*, 4, 100061. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100061>
- Zafra, G., Absalón, Á. E., Anducho-Reyes, M. Á., Fernandez, F. J., y Cortés-Espinosa, D. V. (2017). Construction of PAH-degrading mixed microbial consortia by induced selection in soil. *Chemosphere*, 172, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.038>
- Zeef, L. A., Bosch, L., Anborgh, P. H., Cetin, R., Parmeggiani, A., y Hilgenfeld, R. (1994). Pulvomycin-resistant mutants of E.coli elongation factor Tu. *The EMBO Journal*, 13(21), 5113–5120. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1994.tb06840.x>
- Zgurskaya, H. I. (2002). Molecular analysis of efflux pump-based antibiotic resistance. *International Journal of Medical Microbiology: IJMM*, 292(2), 95–105. <https://doi.org/10.1078/1438-4221-00195>
- Zhang, Hong, Zhou, Huang, y Yu, G. (2003). Fate and assessment of persistent organic pollutants in water and sediment from Minjiang River Estuary, Southeast China. *Chemosphere*, 52(9), 1423–1430. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00478-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00478-8)
- Zhang, W., Chen, W. J., Chen, S. F., Lei, Q., Li, J., Bhatt, P., Mishra, S., y Chen, S. (2023). Cellular Response and Molecular Mechanism of Glyphosate Degradation by Chryseobacterium sp. Y16C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(17), 6650–6661. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c07301>
- Zhang, W., Li, J., Zhang, Y., Wu, X., Zhou, Z., Huang, Y., Zhao, Y., Mishra, S., Bhatt, P., y Chen, S. (2022). Characterization of a novel glyphosate-degrading bacterial species, Chryseobacterium sp. Y16C, and evaluation of its effects on microbial communities in glyphosate-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 432, 128689. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128689>
- Zhu, D., Xiang, Q., Yang, X.-R., Ke, X., O'Connor, P., y Zhu, Y.-G. (2019). Trophic Transfer of Antibiotic Resistance Genes in a Soil Detritus Food Chain. *Environmental Science y Technology*, 53(13), 7770–7781. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b00214>
- Zioga, E., White, B., y Stout, J. C. (2022). Glyphosate used as desiccant contaminates plant pollen and nectar of non-target plant species. *Heliyon*, 8(12), e12179. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12179>