VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Colonización de películas de polietileno de baja densidad (LDPE) por *Lysinibacillus fusiformis* B5B: efecto de la fotooxidación sobre las etapas iniciales del biodeterioro

Colonization of Low-Density Polyethylene (LDPE) Films by *Lysinibacillus fusiformis* B5B: Effect of Photooxidation on the Early Stages of Biodeterioration

Lluvia Gema Belén Vázquez Cisneros[1], Blanca Paulina Yebra Olmos[1], Brenda Isabel Chía Landín[1], Julissa Alexandra Espinoza Chamorro[1], Roberto Díaz Cuesta[1], Berenice Noriega Luna[1*]
[1]Universidad de Guanajuato, Departamento de Ingeniería Civil y Ambiental, División de Ingenierías, Campus Guanajuato. berenice.noriega@ugto.mx

Resumen

El polietileno de baja densidad (LDPE) es uno de los polímeros sintéticos de mayor producción y consumo a nivel mundial; sin embargo, su elevada estabilidad química favorece su acumulación en el ambiente y limita su degradación natural. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad de la bacteria *Lysinibacillus fusiformis* B5B para colonizar películas de LDPE previamente fotooxidadas y no fotooxidadas, con el fin de analizar las etapas iniciales del biodeterioro del polímero. Las películas de LDPE fueron sometidas a fotooxidación mediante radiación ultravioleta durante 72 h y posteriormente incubadas durante 12 días en medio mineral inoculado con la cepa bacteriana. La interacción bacteria–polímero se evaluó mediante espectroscopía FTIR-ATR, recuperación bacteriana en medio sólido, microscopía óptica y cuantificación de la biomasa adherida mediante tinción con cristal violeta. El análisis por FTIR confirmó modificaciones superficiales inducidas por la fotooxidación, mientras que la bacteria permaneció viable durante todo el periodo experimental y fue capaz de colonizar tanto las películas fotooxidadas como las no fotooxidadas. La cuantificación con cristal violeta mostró una ligera tendencia hacia una mayor biomasa adherida sobre las películas previamente fotooxidadas; sin embargo, después de la incubación no se detectaron modificaciones estructurales importantes del LDPE mediante FTIR-ATR. En conjunto, los resultados demuestran que *Lysinibacillus fusiformis* B5B establece las etapas iniciales del biodeterioro del LDPE mediante la adhesión y colonización de la superficie del polímero, aportando evidencia experimental sobre la interacción de una cepa nativa con este material y estableciendo una base experimental para el estudio de las etapas iniciales del biodeterioro de polímeros sintéticos por microorganismos ambientales.

Palabras clave: Biodeterioro; fotooxidación; adhesión bacteriana; colonización bacteriana; microorganismos ambientales; biorremediación.

Introducción

La producción mundial de plásticos ha experimentado un crecimiento sostenido desde mediados del siglo XX debido a las ventajas que estos materiales ofrecen para una amplia variedad de aplicaciones industriales, comerciales, agrícolas y domésticas. Su bajo costo, ligereza, resistencia mecánica, estabilidad química y facilidad de procesamiento han favorecido su incorporación en numerosos productos utilizados diariamente (Geyer *et al*., 2017; Sangale *et al*., 2012). Sin embargo, las mismas propiedades que impulsaron su expansión también han contribuido a la acumulación de grandes cantidades de residuos plásticos en ecosistemas terrestres y acuáticos, donde pueden persistir durante décadas debido a su lenta degradación y a las limitaciones de los sistemas actuales de gestión de residuos (OECD, 2022; UNEP, 2023). En consecuencia, la contaminación por plásticos se ha convertido en uno de los principales desafíos ambientales de la actualidad, haciendo prioritario comprender el comportamiento ambiental de los polímeros de mayor producción y consumo, particularmente aquellos caracterizados por una elevada persistencia.

Entre los polímeros sintéticos de mayor producción y consumo se encuentra el polietileno de baja densidad (LDPE), ampliamente utilizado en la fabricación de bolsas, películas de empaque, envolturas, recubrimientos y otros productos de corta vida útil. La Figura 1 muestra algunos ejemplos representativos de productos fabricados con este polímero. Su amplio uso se debe a propiedades como su flexibilidad, baja densidad,

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

resistencia química, baja permeabilidad al vapor de agua y facilidad de procesamiento, características que lo convierten en uno de los materiales más versátiles para aplicaciones domésticas, comerciales e industriales (Tharanathan, 2003; Ozdemir & Floros, 2004; Sangale *et al*., 2012). Aunque estas propiedades explican su amplia utilización, también le confieren una elevada estabilidad fisicoquímica que favorece su permanencia en el ambiente durante largos periodos. Como consecuencia, la exposición continua a factores ambientales, como la radiación ultravioleta, las variaciones de temperatura y el desgaste mecánico, favorece su fragmentación progresiva y la generación de microplásticos y nanoplásticos capaces de dispersarse ampliamente y acumularse en diferentes compartimentos ambientales (Gewert *et al*., 2015; OECD, 2022; UNEP, 2023).



Figura 1. Ejemplos de productos fabricados principalmente con polietileno de baja densidad (LDPE): (a) bolsas de supermercado, (b) película de empaque (stretch film), (c) bolsas para residuos sólidos, (d) envolturas y empaques flexibles y (e) bolsas y empaques para alimentos.

La Figura 2 presenta de manera esquemática la estructura química del polietileno de baja densidad (LDPE), cuya arquitectura molecular explica su elevada estabilidad química, hidrofobicidad y resistencia a la degradación ambiental. La elevada recalcitrancia ambiental del LDPE se atribuye principalmente a sus propiedades fisicoquímicas derivadas de dicha estructura (Billmeyer, 1984; Andrady, 2015). Este polímero está constituido por largas cadenas hidrocarbonadas unidas mediante enlaces carbono-carbono (C–C) y carbono-hidrógeno (C–H), cuya elevada estabilidad química dificulta su transformación bajo condiciones ambientales (Billmeyer, 1984; Sangale *et al*., 2012). Además, presenta un elevado grado de ramificación que disminuye su densidad y aumenta su flexibilidad, propiedades que favorecen su amplia utilización sin modificar de manera sustancial su resistencia frente a los procesos de degradación ambiental. A diferencia de otros polímeros que contienen grupos funcionales susceptibles de hidrólisis o ataque enzimático, el LDPE posee una estructura predominantemente apolar, lo que le confiere un marcado carácter hidrofóbico y reduce la interacción inicial del material con el agua, las células microbianas y las enzimas extracelulares involucradas en las primeras etapas del biodeterioro (Palmisano & Pettigrew, 1992; Sen & Raut, 2015). En conjunto, estas características convierten al LDPE en un polímero altamente recalcitrante, cuya limitada biodisponibilidad constituye una de las principales barreras para su transformación biológica. Por ello, ha sido necesario desarrollar estrategias orientadas a incrementar la accesibilidad del material a la acción de los microorganismos y sus enzimas extracelulares (Sivan *et al*., 2006; Restrepo-Flórez *et al*., 2014).

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

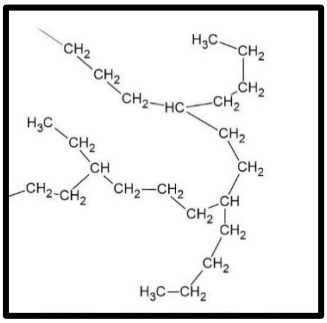


Figura 2. Representación esquemática de la estructura química del polietileno de baja densidad (LDPE), caracterizada por largas cadenas hidrocarbonadas ramificadas unidas mediante enlaces carbono–carbono (C–C) y carbono–hidrógeno (C–H). Esta arquitectura molecular confiere al polímero una elevada estabilidad química, hidrofobicidad y resistencia a la degradación ambiental.

La transformación biológica del LDPE constituye un proceso gradual que comienza con la interacción inicial entre los microorganismos y la superficie del polímero. Debido a la naturaleza hidrofóbica y altamente recalcitrante del material, la adhesión celular representa el primer paso para establecer una interacción estable entre el microorganismo y la superficie plástica, condición indispensable para el desarrollo de procesos posteriores de biodeterioro y biodegradación (Sangale *et al*., 2012; Sivan, 2011; Sen & Raut, 2015). Una vez adheridas, las células pueden organizarse en biopelículas, estructuras multicelulares embebidas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que favorecen la permanencia de los microorganismos sobre el polímero, facilitan el intercambio de nutrientes y metabolitos y crean un microambiente que incrementa la actividad de enzimas extracelulares sobre la superficie del material (Donlan, 2002; Flemming & Wingender, 2010). Estas modificaciones favorecen el biodeterioro, entendido como el conjunto de alteraciones físicas y químicas iniciales inducidas por la actividad microbiana sobre la superficie del polímero, etapa que puede preceder a procesos posteriores de biofragmentación, asimilación y eventual mineralización (Restrepo-Flórez *et al*., 2014; Sen & Raut, 2015). No obstante, la presencia de células adheridas o de biopelículas sobre el LDPE no constituye, por sí sola, evidencia suficiente de biodegradación completa, sino que representa un indicador temprano de interacción microorganismo–polímero que debe complementarse con evidencias fisicoquímicas, bioquímicas y metabólicas para demostrar la transformación efectiva del material.

Para superar estas limitaciones estructurales, se han desarrollado diversas estrategias de preacondicionamiento orientadas a modificar las propiedades superficiales del LDPE y favorecer la interacción microorganismo–polímero. Entre ellas destacan los tratamientos físicos, como la irradiación con luz ultravioleta y el calentamiento térmico, así como los tratamientos químicos basados en procesos oxidativos, los cuales promueven la incorporación de grupos funcionales oxigenados, incrementan la rugosidad superficial y reducen parcialmente el peso molecular del polímero (Albertsson *et al*., 1987; Briassoulis *et al*., 2015; Restrepo-Flórez *et al*., 2014). Estas modificaciones aumentan la hidrofilicidad y accesibilidad del material, favoreciendo la adhesión microbiana, el establecimiento de biopelículas y el desarrollo de las etapas iniciales del biodeterioro (Gewert *et al*., 2015; Muangchinda & Pinyakong, 2024). En conjunto, estos pretratamientos incrementan la susceptibilidad del LDPE al ataque microbiano y constituyen una etapa clave para mejorar la eficiencia de los procesos de biodegradación. En consecuencia, la evaluación de microorganismos capaces de colonizar superficies de LDPE constituye una aproximación útil para comprender los mecanismos que regulan las primeras etapas de la interacción microorganismo–polímero e identificar cepas con potencial para el desarrollo de estrategias biotecnológicas dirigidas al manejo sostenible de residuos plásticos (Mendoza *et al*., 2025).

A pesar de los avances alcanzados en el estudio de la biodegradación del LDPE, la identificación y caracterización de microorganismos con capacidad para establecer interacciones estables con este polímero continúa siendo un área de investigación de gran interés (Sen & Raut, 2015; Mendoza *et al*., 2025). Entre las bacterias estudiadas con este propósito, *Lysinibacillus fusiformis* ha despertado interés por su capacidad para desarrollarse en ambientes contaminados y establecer interacción con superficies de polietileno, características que la convierten en un modelo prometedor para investigar las primeras etapas de la interacción bacteria–polímero (Mukherjee *et al*., 2015; Kalia & Dhanya, 2022). En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el crecimiento y la supervivencia de *Lysinibacillus fusiformis* B5B en medio mineral en presencia de películas de LDPE con y sin pretratamiento UV, así como analizar su adhesión a la superficie del polímero y las modificaciones químicas observadas mediante espectroscopia FTIR-ATR después de la fotoxidación y del contacto bacteria–polímero.

Materiales y métodos

Cepa bacteriana y preparación del inóculo

La cepa *Lysinibacillus fusiformis* B5B, previamente aislada a partir de una muestra de suelo recolectada en la Presa de la Soledad (Guanajuato, México), fue utilizada como modelo biológico para evaluar su interacción con películas de polietileno de baja densidad (LDPE). La cepa se encontraba conservada a −80 °C en una solución de glicerol hasta su utilización experimental. Para su reactivación, se sembró en agar tripticaseína de soya (TSA) y se incubó a 37 °C durante 48 h. Posteriormente, el cultivo se propagó en caldo tripticaseína de soya (TSB) bajo las mismas condiciones de incubación para obtener biomasa bacteriana suficiente para los ensayos experimentales. Finalmente, el inóculo bacteriano se preparó en medio mineral estéril y se ajustó a una densidad óptica de 0.1 a 600 nm (OD_{600} = 0.1) antes de iniciar los ensayos de interacción con las películas de LDPE.

Preparación y fotoxidación de las películas LDPE

Se utilizaron películas comerciales de polietileno de baja densidad (LDPE) Frost King® (91.5 cm × 15.2 m), de las cuales se obtuvieron discos de 1 cm de diámetro para los ensayos experimentales. Previamente al tratamiento, las películas se lavaron con agua destilada y posteriormente con etanol al 70 %, con el propósito de eliminar impurezas superficiales. Una fracción de los discos se mantuvo sin tratamiento y se utilizó como control, mientras que otra fue sometida a un proceso de fotoxidación controlada mediante exposición continua durante 72 h a una lámpara Everbeam® UV LED de 365 nm y 50 W, a temperatura ambiente. Finalizado el tratamiento, las películas fueron analizadas mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) para evaluar las modificaciones químicas inducidas por la irradiación UV. Posteriormente, tanto las películas fotooxidadas como las no tratadas se emplearon en los ensayos de interacción con *Lysinibacillus fusiformis* B5B.

Evaluación del crecimiento de *Lysinibacillus fusiformis* B5B en medio mineral en presencia de películas de LDPE

Con el propósito de evaluar el crecimiento de *Lysinibacillus fusiformis* B5B y su interacción con películas de polietileno de baja densidad (LDPE), se realizaron ensayos de incubación en medio de sales minerales utilizando películas con y sin fotoxidación previa. Los experimentos se realizaron en matraces Erlenmeyer de 125 mL que contenían 50 mL de medio mineral estéril, inoculados con una suspensión bacteriana previamente estandarizada a una densidad óptica de OD_{600} = 0.1. En cada matraz se colocaron cuatro películas de LDPE de 1 cm de diámetro, correspondientes al tratamiento experimental asignado. Los cultivos se incubaron a 37 °C y 100 rpm durante 12 días, condiciones que favorecieron el crecimiento de *L. fusiformis* B5B y promovieron la interacción continua entre las células bacterianas y la superficie del polímero. El diseño experimental incluyó cuatro condiciones: (i) medio mineral con *L. fusiformis* B5B y películas de LDPE sin fotoxidación; (ii) medio mineral con *L. fusiformis* B5B y películas de LDPE previamente fotooxidadas mediante irradiación UV; (iii) medio mineral con películas de LDPE sin inoculación bacteriana, utilizado como control del polímero; y (iv) medio mineral inoculado con *L. fusiformis* B5B sin películas de LDPE, empleado como control de crecimiento bacteriano. Cada tratamiento se realizó por triplicado. Al finalizar el periodo de incubación, las películas fueron recuperadas para la evaluación de la colonización bacteriana mediante microscopía óptica y para su posterior caracterización química mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR).

Evaluación de la colonización bacteriana sobre películas de LDPE mediante microscopía óptica

Al finalizar el periodo de incubación, las películas de LDPE se recuperaron cuidadosamente utilizando pinzas estériles y se lavaron con solución de cloruro de sodio (NaCl) para eliminar las células no adheridas a la superficie del polímero. Posteriormente, las muestras se tiñeron con cristal violeta con el propósito de visualizar las células bacterianas adheridas y estimar de manera indirecta la biomasa asociada a la superficie del material. Para la evaluación microscópica, las películas teñidas se observaron mediante un microscopio binocular Primo Star® (Carl Zeiss AG, Alemania) utilizando un objetivo de inmersión de 100×. Para cada tratamiento se seleccionaron campos representativos de la superficie del polímero y se realizó un registro

fotográfico de las observaciones. La presencia y distribución de células adheridas se interpretaron como evidencia cualitativa de adhesión y colonización bacteriana sobre la superficie del LDPE. Posteriormente, el cristal violeta retenido en las películas se recuperó mediante etanol y la absorbancia de la solución resultante se determinó a 595 nm utilizando un espectrofotómetro UV/Vis 7305 (Jenway, Reino Unido). Los valores de absorbancia se emplearon como una estimación semicuantitativa de la biomasa bacteriana adherida y como un indicador complementario de la interacción bacteria–polímero. Debido a las características de las técnicas empleadas, los resultados se interpretaron como evidencia de adhesión y colonización superficial, sin asumir por sí mismos la formación de biopelículas maduras ni demostrar biodegradación completa del polímero.

Verificación de la viabilidad de *Lysinibacillus fusiformis* B5B al finalizar la incubación

Al concluir el periodo de incubación de 12 días en medio mineral, se verificó la viabilidad de la bacteria *Lysinibacillus fusiformis* B5B mediante su recuperación en agar tripticaseína de soya (TSA). Para ello, se tomaron 100 µL de cada cultivo y se sembraron utilizando la técnica de estría cruzada sobre placas de TSA. Las placas se incubaron a 37 °C durante 48 h, tras lo cual se evaluó la presencia de crecimiento bacteriano y la morfología de las colonias desarrolladas. La recuperación de colonias con una morfología compatible con la de *Lysinibacillus fusiformis* B5B confirmó la viabilidad de la cepa al finalizar el ensayo de incubación en medio mineral.

Caracterización química de las películas de LDPE mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)

Las modificaciones químicas de las películas de polietileno de baja densidad (LDPE) inducidas por la fotoxidación y por su interacción con *Lysinibacillus fusiformis* B5B se evaluaron mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (FTIR-ATR). Los análisis se realizaron utilizando un espectrómetro PerkinElmer equipado con un accesorio ATR de cristal de diamante. Las muestras se colocaron directamente sobre la superficie del cristal y los espectros se registraron en un intervalo espectral de 4000 a 450 cm^{-1}, empleando 64 barridos por muestra y una resolución espectral de 4 cm^{-1}. Se analizaron tres condiciones experimentales: (i) películas de LDPE sin tratamiento, (ii) películas de LDPE sometidas previamente a fotoxidación mediante irradiación ultravioleta durante 72 h y (iii) películas de LDPE fotooxidadas recuperadas después de su incubación con *L. fusiformis* B5B en medio mineral. Los espectros obtenidos se compararon para identificar modificaciones en las bandas características del polímero asociadas tanto al proceso de fotoxidación como al posterior contacto bacteria–polímero.

Resultados

Caracterización química del LDPE después de la fotooxidación UV

Con el propósito de evaluar el efecto del tratamiento de fotoxidación sobre las películas de LDPE, se obtuvieron espectros FTIR-ATR del material sin irradiación y después de 2, 4, 24, 48 y 72 h de exposición continua a radiación ultravioleta (Figura 3). El espectro correspondiente al LDPE sin tratamiento presentó las bandas características del polímero, con señales localizadas aproximadamente en 2916 y 2848 cm^{-1}, correspondientes a los estiramientos asimétrico y simétrico de los grupos metileno (–CH_2–), así como bandas cercanas a 1473–1462, 1378 y 730–719 cm^{-1}, asociadas con las vibraciones de deformación y balanceo de la cadena hidrocarbonada.

La comparación de los espectros obtenidos durante los diferentes tiempos de irradiación mostró que las bandas principales del LDPE permanecieron prácticamente sin modificaciones a lo largo del tratamiento (Figura 3A). En las regiones ampliadas correspondientes a 3600–3000 cm^{-1} y 1800–1600 cm^{-1} (Figuras 3B y 3C) se observaron ligeras variaciones en la intensidad de algunas señales conforme aumentó el tiempo de exposición. Sin embargo, no se identificó la aparición de una banda carbonilo intensa y claramente definida alrededor de 1715–1730 cm^{-1}, considerada uno de los principales indicadores espectroscópicos de fotooxidación del polietileno.

De manera similar, las regiones comprendidas entre 1500–1300 cm^{-1} y 800–650 cm^{-1} (Figuras 3D y 3E) conservaron las señales características del LDPE, observándose únicamente pequeñas variaciones en la intensidad relativa de algunas bandas, sin evidenciar cambios reproducibles que permitieran atribuir dichas variaciones a modificaciones estructurales del polímero. En conjunto, los resultados indican que la irradiación

UV bajo las condiciones evaluadas no produjo cambios químicos claramente detectables mediante FTIR-ATR, manteniéndose el perfil espectral característico del LDPE durante todo el periodo de exposición.

Considerando que 72 h correspondieron al mayor tiempo de irradiación evaluado, las películas sometidas a este tratamiento fueron seleccionadas para los experimentos posteriores de interacción con *Lysinibacillus fusiformis* B5B. Esta condición experimental permitió evaluar el comportamiento de la bacteria sobre un material previamente expuesto a la máxima dosis acumulada de radiación UV utilizada en el presente estudio.

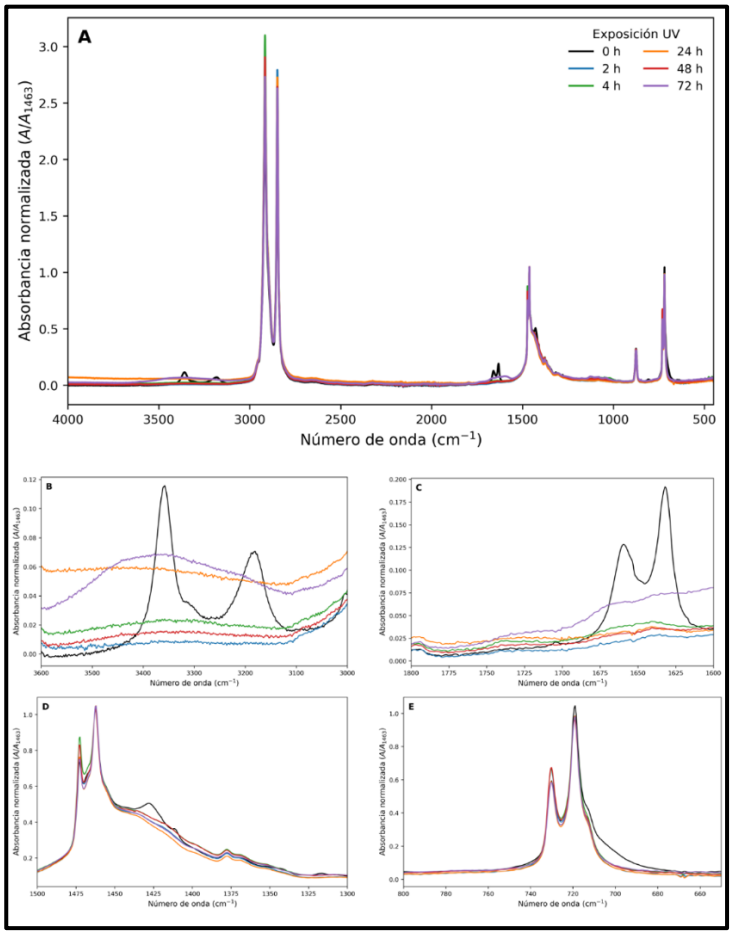


Figura 3. Espectros FTIR-ATR normalizados de películas de polietileno de baja densidad (LDPE) sin irradiación y después de 2, 4, 24, 48 y 72 h de exposición continua a radiación UV. (A) Intervalo espectral completo; (B) región 3600–3000 cm⁻¹; (C) región 1800–1600 cm⁻¹; (D) región 1500–1300 cm⁻¹; y (E) región 800–650 cm⁻¹. Los espectros fueron convertidos a absorbancia y normalizados respecto a la señal de referencia localizada aproximadamente en 1463 cm⁻¹.

Viabilidad de *Lysinibacillus fusiformis* B5B durante la incubación en medio mineral

Con el propósito de determinar la capacidad de la bacteria *Lysinibacillus fusiformis* B5B para mantenerse viable durante el periodo experimental, se evaluó su comportamiento en medio mineral durante 12 días de incubación. A lo largo del ensayo, el medio permaneció visualmente transparente y no se observaron signos de contaminación ni un incremento evidente de biomasa en suspensión (Figura 4A). De manera similar, las condiciones experimentales que contenían películas de LDPE fotooxidadas y no fotooxidadas presentaron un comportamiento visual comparable, sin diferencias apreciables entre tratamientos.

ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Al finalizar el periodo de incubación, la viabilidad de la bacteria se corroboró mediante la recuperación de los cultivos en agar tripticasa de soya (TSA). Después de 48 h de incubación a 37 °C se observó crecimiento bacteriano en todas las muestras inoculadas, independientemente del tratamiento aplicado al LDPE (Figura 4B). Las colonias recuperadas conservaron la morfología característica previamente observada para L. fusiformis B5B, presentando características macroscópicas similares en forma, borde y elevación. Estos resultados confirman que la bacteria permaneció viable durante todo el periodo de incubación en medio mineral y que las condiciones experimentales empleadas no comprometieron su capacidad de crecimiento en un medio nutritivo.

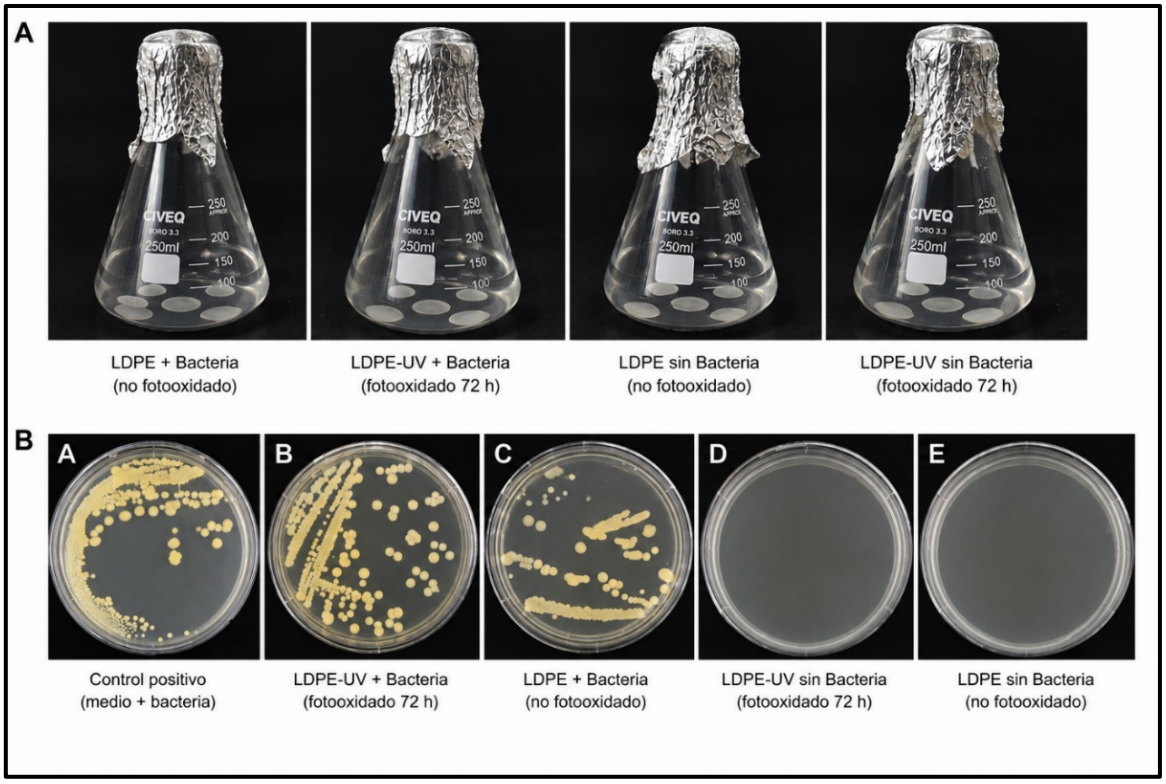


Figura 4. Verificación de la viabilidad de Lysinibacillus fusiformis B5B después de 12 días de incubación en medio mineral. (A) Aspecto representativo de los matraces al finalizar el periodo de incubación bajo las diferentes condiciones experimentales: LDPE no fotooxidado + L. fusiformis B5B, LDPE previamente fotooxidado durante 72 h + L. fusiformis B5B, LDPE no fotooxidado sin inoculación bacteriana y LDPE previamente fotooxidado durante 72 h sin inoculación bacteriana. (B) Verificación de la viabilidad bacteriana mediante recuperación en agar tripticasa de soya (TSA) después de 48 h de incubación a 37 °C. A: control positivo (medio mineral inoculado con L. fusiformis B5B); B: LDPE previamente fotooxidado durante 72 h + L. fusiformis B5B; C: LDPE no fotooxidado + L. fusiformis B5B; D: LDPE previamente fotooxidado durante 72 h sin inoculación bacteriana (control negativo); E: LDPE no fotooxidado sin inoculación bacteriana (control negativo).

Colonización de las películas de LDPE por *Lysinibacillus fusiformis* B5B

La observación microscópica de las películas de LDPE teñidas con cristal violeta permitió identificar estructuras compatibles con células bacilares adheridas a la superficie del polímero después de 12 días de incubación en medio mineral (Figura 5). En contraste con la película control, cuya superficie presentó un aspecto homogéneo y sin estructuras celulares visibles (Figura 5A), las películas incubadas con *Lysinibacillus fusiformis* B5B mostraron células individuales y pequeños agregados distribuidos sobre la superficie del material (Figuras 5B y 5C), evidenciando la capacidad de la bacteria para adherirse al polímero bajo las condiciones experimentales evaluadas.

La colonización se observó tanto en las películas no fotooxidadas como en aquellas previamente sometidas a fotoxidación durante 72 h. En ambos tratamientos fue posible identificar estructuras compatibles con bacilos individuales y pequeños conglomerados celulares asociados a la superficie del LDPE, lo que sugiere el establecimiento de las etapas iniciales de interacción bacteria–polímero. Aunque la microscopía permitió

confirmar la presencia de biomasa adherida, esta técnica proporcionó principalmente información cualitativa sobre la distribución de las células en la superficie del material.

Con el fin de complementar la evidencia obtenida mediante microscopía óptica, la biomasa adherida fue cuantificada indirectamente mediante tinción con cristal violeta y posterior recuperación del colorante con etanol para su determinación espectrofotométrica a 595 nm. Los resultados de esta cuantificación permitieron comparar la biomasa asociada a las películas de LDPE bajo las diferentes condiciones experimentales y se presentan en la siguiente sección.

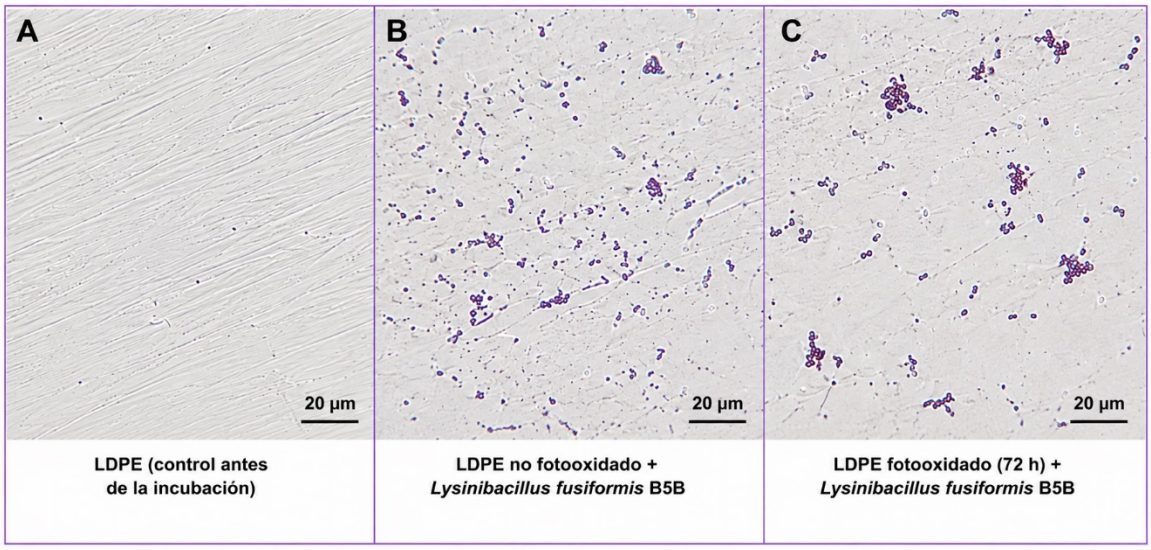


Figura 5. Micrografías ópticas (objetivo de inmersión 100×) de películas de polietileno de baja densidad (LDPE) teñidas con cristal violeta después de 12 días de incubación en medio mineral. (A) Película de LDPE sin fotoxidación antes de la incubación (control). (B) Película de LDPE no fotooxidada incubada con Lysinibacillus fusiformis B5B. (C) Película de LDPE previamente fotooxidada durante 72 h e incubada con Lysinibacillus fusiformis B5B. Las películas incubadas con la bacteria presentaron estructuras compatibles con células bacilares y pequeños agregados celulares distribuidos sobre la superficie del polímero, evidenciando el establecimiento de las etapas iniciales de colonización.

Cuantificación de la biomasa adherida mediante tinción con cristal violeta

Con el propósito de complementar la evaluación cualitativa obtenida mediante microscopía óptica, la biomasa adherida a las películas de LDPE fue cuantificada indirectamente mediante tinción con cristal violeta y posterior recuperación del colorante con etanol para su determinación espectrofotométrica a 595 nm (Figura 6). Los controles negativos, correspondientes a las películas de LDPE no fotooxidado y previamente fotooxidado incubadas en medio mineral sin inoculación bacteriana, presentaron absorbancias promedio de 0.037 ± 0.002 y 0.040 ± 0.002, respectivamente, indicando una retención mínima del colorante por la superficie del polímero en ausencia de biomasa bacteriana.

En contraste, las películas incubadas con *Lysinibacillus fusiformis* B5B mostraron un incremento notable en la absorbancia. Las películas de LDPE no fotooxidado registraron un valor promedio de 0.437 ± 0.003, mientras que las películas previamente fotooxidadas durante 72 h presentaron una absorbancia promedio de 0.476 ± 0.001. Estos resultados confirman la presencia de biomasa adherida sobre la superficie del polímero en ambos tratamientos inoculados y son consistentes con las observaciones obtenidas mediante microscopía óptica.

Aunque ambos tratamientos evidenciaron la capacidad de L. fusiformis B5B para colonizar la superficie del LDPE, las películas previamente fotooxidadas presentaron una ligera tendencia hacia una mayor cantidad de biomasa adherida en comparación con las películas no fotooxidadas. En conjunto, los resultados obtenidos mediante microscopía óptica y tinción con cristal violeta respaldan la capacidad de la cepa para establecer las etapas iniciales de colonización sobre películas de LDPE bajo las condiciones experimentales evaluadas.

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

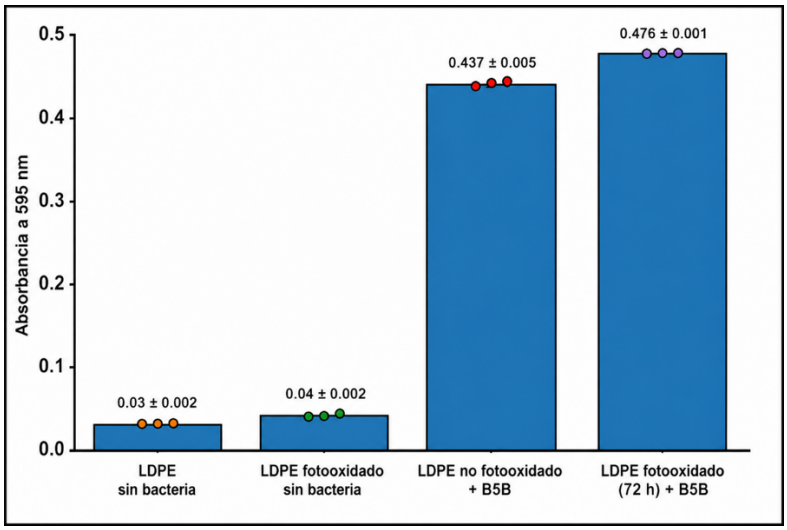


Figura 6. Cuantificación indirecta de la biomasa adherida a películas de polietileno de baja densidad mediante tinción con cristal violeta. Se compararon películas de LDPE incubadas en medio mineral sin inoculación bacteriana, películas no fotooxidadas incubadas con Lysinibacillus fusiformis B5B y películas previamente fotooxidadas durante 72 h incubadas con la bacteria. El colorante retenido fue recuperado con etanol y cuantificado espectrofotométricamente a 595 nm después de 12 días de incubación. Las barras representan la media ± desviación estándar y los puntos corresponden a las tres réplicas de cada condición.

Discusión

La biodegradación microbiana de polímeros sintéticos es un proceso secuencial en el que la adhesión celular y la colonización de la superficie constituyen etapas iniciales indispensables para el establecimiento de una interacción estable entre los microorganismos y el material. Estas etapas preceden a procesos posteriores de secreción de enzimas extracelulares, oxidación localizada, fragmentación y eventual asimilación del polímero, por lo que la presencia de biomasa adherida no debe interpretarse, por sí sola, como evidencia de biodegradación completa (Sivan, 2011; Restrepo-Flórez *et al*., 2014; Flemming & Wingender, 2010). En este contexto, los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que *Lysinibacillus fusiformis* B5B fue capaz de permanecer viable y colonizar películas de LDPE bajo condiciones oligotróficas, estableciendo las etapas iniciales de interacción bacteria–polímero. Aunque durante el periodo experimental no se detectaron modificaciones químicas importantes del LDPE mediante FTIR-ATR, la evidencia obtenida mediante microscopía óptica y cuantificación con cristal violeta confirma que la cepa logró adherirse a la superficie del polímero, un requisito fundamental para el desarrollo de procesos posteriores de biodeterioro.

La fotoxidación constituye una de las estrategias más utilizadas para incrementar la susceptibilidad de polímeros recalcitrantes al ataque microbiano, debido a que modifica las propiedades fisicoquímicas de la superficie sin comprometer completamente la integridad estructural del material. La exposición del LDPE a radiación ultravioleta favorece la incorporación de grupos funcionales oxigenados, incrementa la energía superficial y modifica parcialmente la hidrofobicidad del polímero, condiciones que facilitan la aproximación y adhesión de los microorganismos (Albertsson *et al*., 1987; Kyrikou & Briassoulis, 2007; Gewert *et al*., 2015). En el presente estudio, el análisis mediante FTIR confirmó la presencia de modificaciones superficiales después de 72 h de irradiación, condición que fue seleccionada para evaluar la interacción entre *Lysinibacillus fusiformis* B5B y el polímero. Aunque estos cambios fueron discretos, las películas previamente fotooxidadas mostraron una ligera tendencia hacia una mayor biomasa adherida en comparación con las películas no fotooxidadas, lo que sugiere que modificaciones superficiales relativamente pequeñas pueden favorecer el establecimiento inicial de la bacteria sobre el LDPE. Este comportamiento es consistente con el concepto de biodeterioro descrito para polímeros sintéticos, en el cual el acondicionamiento abiótico del material precede y favorece la colonización microbiana, sin implicar necesariamente una degradación química detectable durante las primeras etapas del proceso (Restrepo-Flórez *et al*., 2014; Sen & Raut, 2015).

VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Los resultados obtenidos también son consistentes con el enfoque metodológico propuesto por Mendoza *et al*. (2025), quienes destacan que la biodegradación del LDPE debe evaluarse mediante la integración de múltiples líneas de evidencia capaces de documentar las diferentes etapas del proceso. Estos autores señalan que técnicas como la microscopía, la espectroscopía FTIR, la pérdida de peso, la cromatografía y otros análisis fisicoquímicos proporcionan información complementaria sobre la interacción microorganismo–polímero y recomiendan interpretar los resultados de forma integrada, evitando considerar una única técnica como evidencia concluyente de biodegradación. En este sentido, la combinación de FTIR, recuperación bacteriana en TSA, microscopía óptica y cuantificación mediante cristal violeta empleada en el presente estudio permitió documentar de manera consistente las etapas iniciales de colonización de *Lysinibacillus fusiformis* B5B sobre el LDPE. Asimismo, la ausencia de modificaciones estructurales importantes detectables mediante FTIR después de la incubación no contradice la evidencia de colonización obtenida por las demás técnicas; por el contrario, refuerza la interpretación de que la adhesión bacteriana constituye una etapa temprana del biodeterioro que precede a transformaciones químicas más profundas del polímero.

La evidencia obtenida mediante microscopía óptica y cuantificación con cristal violeta confirma que *Lysinibacillus fusiformis* B5B fue capaz de adherirse a la superficie del LDPE y establecer las etapas iniciales de colonización bajo las condiciones experimentales evaluadas. La adhesión constituye un evento determinante en el proceso de biodeterioro, ya que permite la permanencia del microorganismo sobre el polímero, favorece la formación de microambientes localizados y facilita el intercambio de metabolitos y enzimas extracelulares con la superficie del material (Donlan, 2002; Flemming & Wingender, 2010; Restrepo-Flórez *et al*., 2014). En este sentido, la presencia de biomasa adherida observada en ambos tratamientos representa una evidencia consistente de interacción bacteria–polímero, aunque por sí sola no demuestra que hayan ocurrido procesos posteriores de biofragmentación o mineralización. Esta interpretación coincide con el concepto actual de biodeterioro, según el cual la colonización superficial constituye una condición necesaria para el inicio de la degradación biológica, pero debe complementarse con otras evidencias que demuestren modificaciones estructurales y metabólicas del polímero antes de concluir que existe biodegradación efectiva (Sivan, 2011; Restrepo-Flórez *et al*., 2014; Mendoza *et al*., 2025).

La relevancia de los resultados obtenidos también radica en las características de la cepa empleada. *Lysinibacillus fusiformis* B5B fue previamente aislada de suelos de la Presa de la Soledad, Guanajuato, y caracterizada mediante herramientas genómicas, las cuales evidenciaron genes asociados con adaptación ambiental, resistencia a metales y biosíntesis de metabolitos secundarios, destacando su potencial biotecnológico para aplicaciones ambientales. Aunque el presente estudio no evaluó la expresión de dichos genes ni los mecanismos fisiológicos implicados en la interacción con el polímero, la capacidad de la cepa para permanecer viable y adherirse al LDPE bajo condiciones oligotróficas resulta consistente con la plasticidad ecológica descrita para especies del género Lysinibacillus (Ahsan & Shimizu, 2021; Jamal & Ahmad, 2022). En este contexto, los resultados obtenidos complementan la caracterización previa de la cepa B5B al aportar evidencia experimental sobre su capacidad para establecer las etapas iniciales del biodeterioro de películas de LDPE, evidenciadas mediante la adhesión y colonización superficial del polímero. Si bien no se observaron modificaciones estructurales evidentes del polímero durante el periodo de incubación, la permanencia de la bacteria sobre la superficie constituye un requisito indispensable para el desarrollo de procesos posteriores de biodeterioro y representa un punto de partida para futuras investigaciones dirigidas a comprender los mecanismos involucrados en la transformación biológica de este material.

Un aspecto importante de los resultados obtenidos es que, aunque la colonización bacteriana fue confirmada mediante microscopía óptica y cuantificación con cristal violeta, no se detectaron modificaciones estructurales importantes en las películas de LDPE mediante espectroscopía FTIR-ATR después de los 12 días de incubación. Lejos de representar una contradicción, este comportamiento resulta consistente con la naturaleza gradual del biodeterioro de polímeros sintéticos. La adhesión y el establecimiento de una biopelícula constituyen eventos iniciales que favorecen la interacción prolongada entre el microorganismo y el material, mientras que las transformaciones químicas detectables del polímero suelen requerir periodos de incubación más prolongados o una actividad metabólica sostenida capaz de generar modificaciones acumulativas sobre la superficie (Sivan, 2011; Restrepo-Flórez *et al*., 2014; Mendoza *et al*., 2025). En este contexto, los resultados del presente estudio muestran que la colonización de las películas de LDPE puede ocurrir antes de que sean evidentes cambios químicos detectables mediante FTIR-ATR, lo que resalta la importancia de interpretar el biodeterioro como un proceso dinámico y secuencial. Esta observación también pone de manifiesto que la evaluación de la interacción entre microorganismos y polímeros sintéticos requiere un enfoque integral, en el que diferentes técnicas aporten información complementaria sobre las distintas etapas del proceso. La incorporación de herramientas como la microscopía electrónica, la determinación de pérdida de masa y análisis químicos más detallados permitirá comprender con mayor profundidad los

mecanismos mediante los cuales *Lysinibacillus fusiformis* B5B interactúa con materiales plásticos y evaluar con mayor precisión su potencial en procesos de biodeterioro y biodegradación.

En conjunto, los resultados obtenidos demuestran que *Lysinibacillus fusiformis* B5B posee la capacidad de permanecer viable y colonizar películas de LDPE bajo condiciones oligotróficas, particularmente cuando el polímero ha sido sometido a un pretratamiento de fotoxidación. La integración de técnicas complementarias, incluyendo espectroscopía FTIR-ATR, recuperación bacteriana en medio sólido, microscopía óptica y cuantificación mediante cristal violeta, permitió documentar de manera consistente las etapas iniciales del biodeterioro sin atribuir procesos de biodegradación que no fueron evidenciados experimentalmente. En este sentido, el presente estudio amplía el conocimiento sobre la interacción entre bacterias ambientales y polímeros sintéticos y aporta información relevante sobre el comportamiento de una cepa nativa de *Lysinibacillus fusiformis* aislada de un ecosistema mexicano. Asimismo, establece un marco experimental que contribuirá al desarrollo de investigaciones orientadas a comprender los mecanismos de interacción entre microorganismos ambientales y polímeros sintéticos, así como a evaluar el potencial de cepas nativas en estrategias sostenibles para el manejo de residuos plásticos.

Conclusión

El presente estudio demostró que *Lysinibacillus fusiformis* B5B posee la capacidad de permanecer viable y colonizar películas de polietileno de baja densidad (LDPE) bajo condiciones oligotróficas, evidenciando las etapas iniciales del biodeterioro del polímero. La fotooxidación previa del LDPE generó modificaciones superficiales que favorecieron una ligera tendencia hacia una mayor adhesión bacteriana, mientras que la combinación de espectroscopía FTIR-ATR, recuperación bacteriana en medio sólido, microscopía óptica y cuantificación mediante cristal violeta permitió documentar de manera integral la interacción entre la bacteria y el material. Aunque durante el periodo experimental no se detectaron modificaciones estructurales importantes en el LDPE después de la incubación, los resultados obtenidos son consistentes con el carácter secuencial del biodeterioro, en el que la adhesión y la colonización preceden a transformaciones químicas detectables del polímero. En conjunto, este trabajo amplía el conocimiento sobre la interacción entre *Lysinibacillus fusiformis* B5B y películas de LDPE, aporta evidencia experimental sobre el comportamiento de una cepa nativa aislada de un ecosistema mexicano y establece una base experimental para el estudio de las etapas iniciales del biodeterioro de polímeros sintéticos por microorganismos ambientales, contribuyendo al desarrollo de estrategias sostenibles para el manejo de residuos plásticos.

Referencias

Ahsan, N., & Shimizu, M. (2021). *Lysinibacillus species: Their potential as effective bioremediation, biostimulant, and biocontrol agents. Reviews in Agricultural Science, 9*, 103–116. https://doi.org/10.7831/ras.9.0_103

Albertsson, A.-C., Andersson, S. O., & Karlsson, S. (1987). The mechanism of biodegradation of polyethylene. *Polymer Degradation and Stability, 18*(1), 73–87. https://doi.org/10.1016/0141-3910(87)90084-X

Andrady, A. L. (2015). *Plastics and environmental sustainability*. John Wiley & Sons. https://doi.org/10.1002/9781119009405

Billmeyer, F. W. (1984). *Textbook of polymer science* (3rd ed.). John Wiley & Sons.

Briassoulis, D., Babou, E., Hiskakis, M., & Kyrikou, I. (2015). Analysis of long-term degradation behaviour of polyethylene mulching films with pro-oxidants under real cultivation and soil burial conditions. *Environmental Science and Pollution Research,* 22(4), 2584–2598. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3464-9

Donlan, R. M. (2002). *Biofilms: Microbial life on surfaces*. *Emerging Infectious Diseases, 8*(9), 881–890. https://doi.org/10.3201/eid0809.020063

Flemming, H.-C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology, 8*(9), 623–633. https://doi.org/10.1038/nrmicro2415

Gewert, B., Plassmann, M. M., & MacLeod, M. (2015). Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment. *Environmental Science: Processes & Impacts,* 17(9), 1513–1521. https://doi.org/10.1039/C5EM00207A

Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances, 3*(7), e1700782. https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782

Jamal, Q. M. S., & Ahmad, V. (2022). *Lysinibacilli:* A biological factories intended for bio-insecticidal, bio-control, and bioremediation activities. *Journal of Fungi, 8*(12), 1288. https://doi.org/10.3390/jof8121288

Kalia, A., & Dhanya, M. S. (2022). *Evaluation of biodegradation efficiency of xylene pretreated polyethylene wastes by isolated* Lysinibacillus fusiformis. *Nature Environment and Pollution Technology, 21*(3), 1375–1380. https://doi.org/10.46488/NEPT.2022.v21i03.045

Kyrikou, I., & Briassoulis, D. (2007). *Biodegradation of agricultural plastic films: A critical review*. *Journal of Polymers and the Environment, 15*(2), 125–150. https://doi.org/10.1007/s10924-007-0053-8

Mendoza, J. E., Tineo, D., Chuquibala-Checan, B., Atalaya-Marin, N., Taboada-Mitma, V. H., Tafur-Culqui, J., Tarrillo, E., Gómez-Fernández, D., Goñas, M., & Reyes-Reyes, M. A. (2025). Global perspectives on the biodegradation of LDPE in agricultural systems. *Frontiers in Microbiology, 15*, 1510817. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1510817

Muangchinda, C., & Pinyakong, O. (2024). Enrichment of LDPE-degrading bacterial consortia: Community succession and enhanced degradation efficiency through various pretreatment methods. *Scientific Reports, 14*, 28795. https://doi.org/10.1038/s41598-024-80306-4

Mukherjee, S., Roy Chowdhuri, U., & Kundu, P. P. (2016). Bio-degradation of polyethylene waste by simultaneous use of two bacteria: *Bacillus licheniformis* for production of bio-surfactant and *Lysinibacillus fusiformis* for bio-degradation. *RSC Advances, 6*(4), 2982–2992. https://doi.org/10.1039/C5RA25128A

OECD. (2022). *Global plastics outlook: Economic drivers, environmental impacts and policy options*. OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/de747aef-en

Ozdemir, M., & Floros, J. D. (2004). Active food packaging technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44*(3), 185–193. https://doi.org/10.1080/10408690490441578

Palmisano, A. C., & Pettigrew, C. A. (1992). Biodegradability of plastics. *BioScience, 42*(9), 680–685. https://doi.org/10.2307/1312174

Restrepo-Flórez, J.-M., Bassi, A., & Thompson, M. R. (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation, 88*, 83–90. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.12.014

Sangale, M. K., Shahnawaz, M., & Ade, A. B. (2012). A review on biodegradation of polythene: The microbial approach. *Journal of Bioremediation & Biodegradation, 3*(10), 164. https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000164

Sen, S. K., & Raut, S. (2015). Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering, 3*(1), 462–473. https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.01.003

Sivan, A. (2011). New perspectives in plastic biodegradation. *Current Opinion in Biotechnology, 22*(3), 422–426. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.01.013

Sivan, A., Szanto, M., & Pavlov, V. (2006). Biofilm development of the polyethylene-degrading bacterium *Rhodococcus ruber*. *Applied Microbiology and Biotechnology, 72*(2), 346–352. https://doi.org/10.1007/s00253-005-0259-4

Tharanathan, R. N. (2003). *Biodegradable films and composite coatings: Past, present and future*. *Trends in Food Science & Technology, 14*(3), 71–78. https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00280-7

UNEP. (2023). *Turning off the tap: How the world can end plastic pollution and create a circular economy*. https://www.unep.org/resources/turning-off-tap-end-plastic-pollution-create-circular-economy