

Biodegradación de petróleo por *Bacillus thuringiensis* como alternativa para la recuperación de suelos agrícolas

Biodegradation of petroleum by *Bacillus thuringiensis* as alternative for recuperation of agriculture soils

Omar Patiño Hermoza

Escuela de Postgrado de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, PERÚ
CP 13011 <http://orcid.org/0000-0002-6133-4042>

Heber Robles Castillo

Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, PERÚ
CP 13011 <http://orcid.org/0000-0002-0413-7165>

Luis León Mendoza

Estación Experimental Agraria Tacna. Dirección de Recursos Genéticos y Biotecnología, Instituto Nacional de Innovación Agraria, Av. Collpa S/N La Agronomica, distrito Coronel Gregorio Albarracín Lanchipa, Tacna, PERÚ
leonmendoza9@gmail.com // <http://orcid.org/0000-0001-9522-4784>

Recibido: 13-IV-2021; aceptado: 28-V-2021; publicado online: 31-VII-2021; publicado impreso: 31-VIII-2021

Resumen

La contaminación por petróleo afecta una gran diversidad de ecosistemas, como bosques, manglares, suelos agrícolas y cuerpos de agua. En respuesta a esta problemática se ha estudiado diversos microorganismos capaces de remediar estos ecosistemas. En la presente investigación se determinó la degradación de petróleo por *Bacillus thuringiensis*, en tres concentraciones de petróleo 1.5, 3 y 4.5% con un medio mínimo de sales. La degradación de petróleo se midió mediante DBO_5 y biomasa celular. El DBO_5 disminuyó, con un promedio inicial de 66,85 mg de O_2/L (Día 0, inicio de tratamiento) hasta 5,86 mg de O_2/L (Día 15, final del tratamiento). La biomasa celular se incrementó exponencialmente con un promedio de 24×10^6 UFC/mL. Mediante el análisis de varianza no se encontró una diferencia estadística significativa entre los tratamientos, pero, existe una relación correlativa entre la concentración de petróleo y biomasa celular, por tanto, *Bacillus thuringiensis* puede ser una alternativa para la recuperación de suelos agrícolas contaminados con petróleo; sin embargo, se debería investigar su sinergia con otros microorganismos, su máxima tolerancia al crudo de petróleo y metodologías adecuadas para su aplicación.

Palabras clave: Bioaugmentación, bioestimulación, biorreactor, biorremediación

Abstract

The contamination great diversity of ecosystems, such as forests, mangroves, agricultural soils and water. Various studies have been done about different microorganisms to remediate petroleum-contaminated soils. In this research, there has been determined the biodegradation of petroleum by *Bacillus thuringiensis*, in three concentrations of 1.5, 3 and 4.5%. The biodegradation was measured using DBO_5 and cell biomass. The DBO_5 decreased, with an initial average of 66.85 mg O_2/L (Day 0, start of treatment) until 5.86 mg O_2/L (Day 15, start of treatment). Cellular biomass increased exponentially with an average of 24×10^6 CFU/mL. Through the analysis of variance, no significant statistical difference was found between the treatments, but there is a correlative relationship between the concentration of petroleum and cell biomass, therefore, *Bacillus thuringiensis* may be an alternative for the recovery of agricultural soils contaminated with petroleum, however, its synergy with other microorganisms, its maximum tolerance to crude petroleum and appropriate methodologies for its application should be investigated.

Keywords: Bioaugmentation, biostimulation, bioreactor, bioremediation

Citación: Patño, O.; E. Robles & L. León. 2021. Biodegradación de petróleo por *Bacillus thuringiensis* como alternativa para la recuperación de suelos agrícolas.

Arnaldoa 28(2):339-348 doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.282.28205>

Introducción

En Perú, el petróleo es la principal fuente de energía y se produce más de 76 mil barriles por día con una demanda 160 mil barriles diarios; y se ha evidenciado más de 150 derrames de este hidrocarburo en el ambiente durante los últimos 15 años (Mendoza & Guerrero, 2017). Más del 50% de estos derrames fueron por actividades en refinerías de petróleo, por acciones como limpieza de tanques, separadores de agua-

aceite y limpieza de conductos de crudo; sumado a la falta de una intervención normativa adecuada y oportuna, varios ecosistemas son afectados por la contaminación de petróleo y se genera una problemática ambiental y socioeconómica (Cárdenas et al., 2017).

Uno de los ecosistemas afectados por los derrames de petróleo, es el agrícola, debido al impacto negativo en el crecimiento y germinación de las plantas, así como en las

comunidades microbianas responsables de la descomposición de la materia orgánica para la liberación de nutrientes y fertilidad del suelo (Xie *et al.*, 2017). Grados & Pacheco (2016) reportaron como los derrames de petróleo en la rivera del Maraón, Amazonas, Perú, afectó la actividad agrícola de la comunidad campesina de Kukama Kukamiria.

Una alternativa para solucionar esta problemática, es la aplicación de procesos de remediación mediante el uso de microorganismos, debido a su alta efectividad, bajos costos y sinergia ambiental (Liu *et al.*, 2020).

De acuerdo con Singh *et al.* (2019) *Bacillus thuringiensis* aumento el porcentaje de germinación *Pisum sativum* "arveja" y presentó la capacidad de degradación de metales pesados y compuestos xenobióticos. asociados a la contaminación por petróleo.

Existen diversas metodologías para la aplicación de microorganismos para la recuperación de los suelos contaminados con petróleo, algunos con mayor eficiencia o limitaciones que otros, dentro de estas metodologías esta la bioaumentación y bioestimulación que presentan un alto índice de efectividad (dos Santos & Maranhão, 2018).

Por tanto, se conoce que existen áreas agrícolas contaminadas por petróleo, y es necesario la identificación de microorganismos con la capacidad de degradar este contaminante. Por tal motivo, el principal objetivo de esta investigación fue demostrar la biodegradación de petróleo por *B. thuringiensis*, también, proponer estrategias para el uso de este microorganismo como una alternativa en la recuperación de suelo agrícolas contaminados con petróleo.

Materiales y métodos

Construcción de biorreactores experimentales

Para determinar la biodegradación de petróleo por *B. thuringiensis*, se empleó cuatro biorreactores cilíndricos con aireación lateral como los descritos por Mendoza & Guerrero (2017), con una capacidad de 2 L, provisto de cuatro deflectores de 1,2 x 8 cm en cada biorreactor, con motores de 9V que fueron regulados a 1,5 V para su funcionamiento. Los biorreactores fueron conectados a un sistema de aireación previamente purificado con solución salina al 20%.

Aislamiento y selección de *Bacillus thuringiensis*

Para el aislamiento y selección de *Bacillus thuringiensis* se empleó el bioinsecticida marca "Superbacillus", el procedimiento empleado fue el descrito por Soares-da-Silva *et al.* (2015) que consistió en una mezcla de 1g del bioinsecticida en 10 mL de solución salina, posteriormente diluida hasta 10^{-6} , y sometida a shock térmico a 80°C por 12 minutos y enfriada a baño helado por 5 minutos. Seguido, 100 μ L de la solución fue transferida en placas de Petri con agar nutritivo y extendido con una espátula Dri-galski, las placas de Petri fueron invertidas e incubadas a 28°C por 48 horas. Las colonias que presentaron características morfológicas de *Bacillus* fueron inoculadas en matraces con caldo nutritivo que contenía penicilina G, y fueron incubados a 28°C por 48 horas. Las colonias que crecieron fueron observadas al microscopio mediante tinción de Wirtz y azul de Coomassie para determinar su forma bacilar, distensión del esporangio, localización y morfología de la espora correspondiente a *B. thuringiensis*.

Elaboración del diseño experimental

Para iniciar el diseño experimental, se elaboró el medio mínimo de sales, que se empleó como parte del medio de cultivo en los biorreactores. Tiene una composición de 0,1% KH_2PO_4 , 0,05% MgSO_4 , 0,05% NH_4Cl , 0,5% MnSO_4 , 0,01% FeSO_4 , 0,01% CaCl_2 , 0,01% ZnSO_4 , 10 g de Acetato de Sodio, 1g Extracto de levadura (Mishra *et al.*, 2014).

Luego de verificar la viabilidad del cultivo de *B. thuringiensis*, se preparó el inóculo; del cultivo puro se tomó una alícuota, se sembró en 5 mL de caldo nutritivo a 30°C a 130 rpm por 3 horas, después se tomó un 1 mL y se transfirió en frasco de Erlenmeyer con 200 mL de caldo nutritivo, se incubó en agitación constante por 20 horas y se comparó con el tubo N°2 del nefelómetro de MacFarland, 6×10^8 UFC/mL (Ballardo *et al.*, 2017).

Para la elaboración de los tratamientos, se evaluó la capacidad degradativa de tres concentraciones de petróleo Diesel II (1,5, 3, 4,5%), para lo cual, antes de cada experimento todos los biorreactores fueron sometidos a desinfección química con hipoclorito de sodio al 5% y luego en cámara UV durante una hora. Los cuatro tratamientos fueron diseñados de la siguiente manera, Tratamiento 1 (T_1): medio mínimo de sales con petróleo Diésel II al 1,5% y 50 mL del inóculo de *B. thuringiensis*; Tratamiento 2 (T_2): medio mínimo de sales con petróleo Diésel II al 3% y 50 mL del inóculo de *B. thuringiensis*; Tratamiento 3 (T_3): medio mínimo de sales con petróleo Diésel II al 4,5% y 50 mL del inóculo de *B. thuringiensis*; Tratamiento 4 (T_4): medio mínimo de sales con petróleo Diésel II al 4,5% (Mendoza & Guerrero, 2017).

Evaluación de la biodegradación de petróleo

Para el control de la biodegradación de petróleo por *B. thuringiensis*, se evaluó la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) y crecimiento de biomasa celular. Para determinar el DBO_5 , se empleó el método de Winkler modificado por Alsterberg, desde el agregado del inóculo y cada 5 días por un periodo de 15 días (Mendoza & Guerrero, 2017). Para determinar el crecimiento de biomasa celular, se empleó el método de recuento en placa de superficie, desde el agregado del inóculo y cada 3 días por un periodo de 15 días.

Análisis estadístico

El análisis estadístico del diseño experimental constó de cuatro tratamientos con tres repeticiones. La desviación estándar fue calculada mediante Microsoft Excel, para los promedios de la biomasa celular y demanda de bioquímica de oxígeno se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y un análisis de correlación de Pearson con un nivel de significancia de $\rho \leq 0,05$ mediante Minitab 19 Statistical Software.

Resultados y discusión

Diseño experimental

De acuerdo con Kureel *et al.* (2017), el limitante de los procesos de biorremediación es la lenta degradación del contaminante, por tanto, el uso de biorreactores permite diversas ventajas como el incremento de la biomasa, viabilidad y vitalidad del microorganismo mejorando la biodegradación del contaminante. El uso de sistemas de biorreactores incrementa el potencial de biorremediación y la capacidad de tolerar mejor las concentraciones del contaminante (Singh y Fulekar, 2010).

El diseño experimental empleado es similar al descrito por Mendoza & Guerrero (2017), para determinar la biodegradación de petróleo en agua de mar por *Pseudomonas aeruginosa*, mediante cuatro tratamientos con diferentes concentraciones de petróleo (1 y 2%) en un medio mínimo de sales en biorreactores de tanque aireado y agitado.

Aislamiento de *Bacillus thuringiensis*

El género *Bacillus* en condiciones de estrés, las células producen endoesporas ovoides entrando en un estado de latencia por largos periodos, estos mecanismos de defensa están asociados a cambios temporal en la expresión de genes, la posición y formas de la espora también permite una identificación morfológica (Soares-da-Silva *et al.*, 2015).

Para el aislamiento de *B. thuringiensis*, el cultivo fue sometido a estrés térmico para formación de esporas, se empleó tinción de Wirtz y azul de Coomassie para su determinación micro-morfológica.

Prueba de DBO₅

De acuerdo con Marchut-Mikolajczyk *et al.* (2015), que investigaron la biodegradación de diésel por acción de *Mucor circinelloides*, mencionan que en el caso de procesos aerobios la concentración de oxígeno en el medio es uno de los parámetros más importante porque determinan la eficiencia del proceso; la actividad respiratoria está estrictamente correlacionada con la actividad de degradación microbiana, pudiendo determinarla mediante el oxígeno consumido en presencia del contaminante.

El DBO₅ se utilizó como indicador indirecto para medir la degradación de materia orgánica, el cual disminuyó en forma proporcional al petróleo residual. Los resultados promedio de DBO₅ entre el Día 0 (inoculación) y el Día 15 (final del tratamiento)

fueron, en el T₁ de 40,41 a 6,2 mg de O₂/L, T₂ de 87,24 a 5,6 mg de O₂/L, T₃ de 72,92 a 5,8 mg de O₂/L, y T₄ de 12,1 a 12 mg de O₂/L (Tabla 1). Lo que demostró, que el petróleo fue consumido por *B. thuringiensis*, la pequeña cantidad de oxígeno requerido para la oxidación de materia orgánica es debido a la presencia de una cantidad menor de materia orgánica degradable.

Aumento de biomasa celular

De acuerdo con Tao *et al.* (2016) la biodegradación de hidrocarburos depende de la supervivencia de los microorganismos después de la inoculación, además determinaron que *Bacillus cereus* puede utilizar el crudo de petróleo como única fuente de carbono y energía, evidenciado por el incremento de biomasa celular después de 7 días de inoculación.

En *B. thuringiensis* el crecimiento celular fue exponencial, en el día 15 de tratamiento se alcanzó los valores más elevados, en el T₁ fue 21x10⁶ UFC/mL, T₂ fue 28x10⁶ UFC/mL, T₃ fue 23x10⁶ UFC/mL (Tabla 2).

En los tratamientos T₁, T₂, T₃ se demostró la biodegradación de petróleo por *B. thuringiensis* en comparación con el tratamiento control T₄. El recuento microbiano después de 15 días produjo el consumo de oxígeno que necesitan las bacterias para transformar el petróleo en biomasa y dióxido de carbono.

Análisis estadístico

Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) en los valores obtenidos de DBO₅ y biomasa celular sin encontrar una diferencia significativa entre los tratamientos T₁, T₂, T₃, además se utilizó el análisis de correlación de Pearson entre la concentración de petróleo y biomasa celular, lo que demostró que la biomasa celular es directamente proporcional a la

concentración de petróleo ($p \leq 0,05$ %; $r = 0,999$).

Los resultados obtenidos son similares a los de Das & Mukherjee, (2007), que determinaron la eficiencia de *Bacillus subtilis* en la biodegradación de petróleo, y concluyeron que existe una relación entre la disminución y concentración de petróleo con respecto a la biomasa celular, así mismo demostraron que el proceso degradativo está relacionado a la respiración celular.

***Bacillus thuringiensis* una alternativa para la remediación de suelo agrícola contaminado con petróleo**

Dentro de las metodologías de biorremediación de suelos contaminados existen dos procesos muy empleados, la bioaumentación y bioestimulación.

La bioestimulación es la adición de materiales estimulantes, agentes de carga, nutrientes, biosurfactantes, biopolímeros o biofertilizantes para facilitar el crecimiento de microorganismos degradadores o de microbiota autóctona del suelo que favorezcan el proceso de biorremediación (Wu *et al.*, 2016). Uno de los principales problemas con este tipo de biorremediación es la posible contaminación durante la bioestimulación y que puedan afectar el proceso de remoción (Lim *et al.*, 2016). Por otro lado, la bioaumentación implica la adición de cultivos microbianos exógenos, autóctonos comunidades o genéticamente modificados con actividad catabólica específica que se ha adaptado y probado para degradar contaminantes o mejorar la tasa de degradación (Nwankwegu & Onwosi, 2017), sin embargo, al usar microorganismos exógenos se puede producir una interferencia entre microorganismos.

Se ha reportado grandes logros de biodegradación de petróleo y sus derivados, aplicando estas metodologías, como los expuestos por Ortega-González *et al.* (2015), quienes consiguieron la reducción del 100% de naftaleno, 37,87% de antraceno, 25,10% de pireno y 18,18% de fluoranteno en un periodo de 45 días.

Por tanto, en la presente investigación se demostró la biodegradación de petróleo por *B. thuringiensis* en biorreactores aireados; de acuerdo a lo expuesto, primero se determinó la capacidad degradativa de *B. thuringiensis* en un ambiente controlado, para evitar contaminación o injerencia de otro microorganismo. Para posteriormente, considerar a *B. thuringiensis* como una alternativa para la remediación de suelo agrícola contaminado con petróleo mediante la aplicación de técnicas como la bioaumentación y bioestimulación.

Conclusiones

Se concluyó que *B. thuringiensis* presenta la capacidad para la degradación de tres concentraciones de 1,5%, 3% y 4,5% de petróleo "Diésel II" en un medio mínimo de sales en biorreactores de tanque aireado y agitado. Sin encontrar una diferencia estadística significativa entre los tratamientos, pero si una relación correlacional entre la concentración de petróleo y biomasa celular.

Los autores recomiendan el desarrollo de investigaciones con *B. thuringiensis* aplicando técnicas como la bioaumentación y bioestimulación para la remediación de suelos con presencia de petróleo.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés alguno

Declaración de disponibilidad de datos

Toda la data relevante a la investigación se muestra dentro del mismo manuscrito

Contribución de los autores

O.P.H.: definió la idea inicial. O.P.H y H.R.C: realizaron las expediciones en campo. O.P. H y L.L.M.: redactaron el manuscrito inicial. O.P.H, H.R.C y L.L.:M realizaron las correcciones finales.

Información de financiamiento

Este estudio fue financiado por los propios autores.

Literatura citada

- Ballardo, C.; R. Barrena; A. Artola & A. Sánchez.** 2017. A novel strategy for producing compost with enhanced biopesticide properties through solid-state fermentation of biowaste and inoculation with *Bacillus thuringiensis*. *Waste management*, 70: 53-58. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.041>
- Cárdenas, P. G.; R. Cabello; L. Valdiviezo & R. Munive.** 2017. "Bioestimulación de bacterias autóctonas con adición de enmiendas en la degradación de cadenas hidrocarbonadas de suelos contaminados en la Refinería de petróleo Conchan en Lima-Perú, 2017", *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas* 15(2): 16-20.
- Das, K. & A. K. Mukherjee.** 2007. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India. *Bioresource technology*, 98(7): 1339-1345. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.032>
- Dos Santos, J. J. & L. T. Maranhão.** 2018. Rhizospheric microorganisms as a solution for the recovery of soils contaminated by petroleum: A review. *Journal of environmental management*, 210: 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.01.015>.
- Grados, C. V. & E. M. Pacheco.** 2016. El impacto de la actividad extractiva petrolera en el acceso al agua: el caso de dos comunidades kukama kukamiria de la cuenca del Marañón (Loreto, Perú). *Anthropologica*, 34(37): 33-59. <https://doi.org/10.18800/anthropologica.201602.002>.
- Kureel, M. K.; S. R. Geed; B. S. Giri; B. N. Rai & R. S. Singh.** 2017. Biodegradation and kinetic study of benzene in bioreactor packed with PUF and alginate beads and immobilized with *Bacillus sp.* M3. *Bioresource technology*, 242: 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.167>
- Lim, M. W.; E. Von Lau & P. E. Poh.** 2016. A comprehensive guide of remediation technologies for oil contaminated soil—present works and future directions. *Marine pollution bulletin*, 109(1): 14-45. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.04.023>
- Liu, X.; Z. Li; C. Zhang; X. Tan; X. Yang; C. Wan & D. J. Lee.** 2020. Enhancement of anaerobic degradation of petroleum hydrocarbons by electron intermediate: Performance and mechanism. *Bioresource technology*, 295: 122305. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122305>.
- Marchut-Mikolajczyk, O.; E. Kwapisz; D. Wiczorek & T. Antczak.** 2015. Biodegradation of diesel oil hydrocarbons enhanced with *Mucor circinelloides* enzyme preparation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 104: 142-148. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.05.008>.
- Mendoza, A. A. & A. M. P. Guerrero.** 2017. Biodegradación de petróleo diesel-2 en agua de mar por *Pseudomonas aeruginosa* en un biorreactor aireado y agitado. *Sciéndo*, 18(1): 23-37.
- Mishra, S.; S. N. Singh & V. Pande.** 2014. Bacteria induced degradation of fluoranthene in minimal salt medium mediated by catabolic enzymes *in vitro* condition. *Bioresource technology*, 164: 299-308. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.04.076>
- Nwankwegu, A. S. & C. O. Onwosi.** 2017. Bioremediation of gasoline contaminated agricultural soil by bioaugmentation. *Environmental Technology & Innovation*, 7: 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2016.11.003>.
- Ortega-González, D. K.; G. Martínez-González; C. M. Flores; D. Zaragoza; J. C. Cancino-Díaz; J. A. Cruz-Maya & J. Jan-Roblero.** 2015. *Amycolatopsis sp.* Poz14 isolated from oil-contaminated soil degrades polycyclic aromatic hydrocarbons. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 99: 165-173. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.01.008>
- Singh, D. & M. H. Fulekar.** 2010. Benzene bioremediation using cow dung microflora in two

- phase partitioning bioreactor. *Journal of hazardous materials*, 175(1-3): 336-343. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.008>.
- Singh, S.; V. Kumar; G. K. Sidhu; S. Datta; D. S. Dhanjal; B. Koul & J. Singh.** 2019. Plant growth promoting rhizobacteria from heavy metal contaminated soil promote growth attributes of *Pisum sativum* L. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 17: 665-671. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.01.035>.
- Soares-Da-Silva, J.; V. C. S. Pinheiro; E. Litaiff-Abreu; R. A. Polanczyk & W. P. Tadei.** 2015. Isolation of *Bacillus thuringiensis* from the state of Amazonas, in Brazil, and screening against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 59(1): 1–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbe.2015.02.001>
- Tao, K.; X. Liu; X. Chen; X. Hu; L. Cao & X. Yuan.** 2017. Biodegradation of crude oil by a defined co-culture of indigenous bacterial consortium and exogenous *Bacillus subtilis*. *Bioresource technology*, 224: 327-332. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.10.073>
- Varjani, S. J. & V. N. Upasani.** 2017. A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 120: 71-83. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006>.
- Wu, M.; W. A. Dick; W. Li; X. Wang; Q. Yang; T. Wang & I. Chen.** 2016. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 107: 158-164. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.11.019>
- Xie, W.; Y. Zhang; R. Li; H. Yang; T. Wu; L. Zhao & Z. Lu.** 2017. The responses of two native plant species to soil petroleum contamination in the Yellow River Delta, China. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(31): 24438-24446. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0085-0>.

Tabla 1. Promedio de la Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅) en el T₁ T₂ T₃ T₄ con *B. thuringiensis* en el primer día (Día 0) y último día (Día 15) de tratamiento

Tratamiento	Promedio de DBO ₅ (mg de O ₂ /L)	
	Día 0	Día 15
T ₁	40.41	6.2
T ₂	87.24	5.6
T ₃	72.92	5.8
T ₄ (control)	12.1	12.1

Tabla 2. Crecimiento celular de *B. thuringiensis* en los tratamientos T₁, T₂, T₃ y T₄.

Tratamiento	Crecimiento celular (UFC/mL)			
	Día 0	Día 5	Día 10	Día 15
T ₁	3 x10 ⁶	6 x10 ⁶	18 x10 ⁶	15 x10 ⁶
T ₂	8 x10 ⁶	12 x10 ⁶	21 x10 ⁶	21 x10 ⁶
T ₃	12 x10 ⁶	10 x10 ⁶	15 x10 ⁶	28 x10 ⁶
T ₄	0	0	0	0

