



ARTÍCULO ORIGINAL

Bacterias con potencialidades para la degradación de hidrocarburos en suelos contaminados de Quevedo, Ecuador

Bacteria with potential for hydrocarbons degrading in contaminated soils in Quevedo, Ecuador

Laura Morante-Carriel^{1,4}, Hyron Fabricio Canchignia², Jaime Morante-Carriel³, Ricardo Romero-Meza¹, Angel Cedeño Moreria¹ y Fernando Abasolo-Pacheco^{2*}

¹ Unidad de Posgrado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Los Ríos, Ecuador

² Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Los Ríos, Ecuador

³ Facultad de Ciencias Ambientales, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Los Ríos, Ecuador

⁴ Unidad de Posgrado, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile

Autor para correspondencia:
fabasolo@uteq.edu.ec

RESUMEN

El estudio de la diversidad microbiana y de la dinámica de sus poblaciones en consorcios biodegradadores, está creciendo notablemente en la ecología microbiana. Permite profundizar en el conocimiento acerca de la composición de las comunidades presentes en suelos contaminados y determinar cuáles son los microorganismos capaces de adaptarse a los hábitats contaminados y ejercer efecto para biodegradar. El objetivo del presente trabajo fue obtener cepas bacterianas con capacidad de adaptación a los hábitats contaminados por hidrocarburos y seleccionar las promisorias para degradar dichos compuestos a partir de suelos contaminados con petróleo de la ciudad de Quevedo, Ecuador. Se realizó el aislamiento y purificación de las cepas bacterianas mediante el método de enriquecimiento secuencial. Se realizó la caracterización macro- y microscópica de las cepas seleccionadas, así como su relación fenotípica. Los resultados demuestran diferencias significativas en cuanto al crecimiento, donde las cepas ARP-2/1, ARP-2/2, ARP-2/3 y DRP-6/6 destacaron por un mayor crecimiento, lo que se podría traducir en una adaptación al medio. De acuerdo a la caracterización realizada se selecciona una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, por su mejor adaptación y con alto potencial para la degradación de hidrocarburos.

Palabras clave: biorremediación, *Pseudomonas* spp., petróleo, suelo contaminado

ABSTRACT

The study of microbial diversity and the dynamics of its populations in biodegradable consortiums is growing remarkably in the microbial ecology, allowing to deepen knowledge about the composition of the communities present in contaminated soils and thus determine which microorganisms are capable of adapt to contaminated habitats and exert an effect to biode-

Recibido: 2018-08-10

Aceptado: 2018-12-09

grade. The goal of this research was to obtain bacterial strains with the capacity of adaptation to habitats contaminated by hydrocarbons, and then select those with the potential to degrade those compounds from soils contaminated with oil from the city of Quevedo, Ecuador. Isolation and purification of bacterial strains was performed using the sequential enrichment method. Likewise, the macro- and microscopic characterization of the selected strains was carried out, as well as their phenotypic relationship. The results show significant differences in growth and the strains ARP-2/1, ARP-2/2, ARP-2/3 and DRP-6/6 showed the highest growth, which could be translated into an adaptation to the environment. According to the characterization carried out, the selection of *Pseudomonas aeruginosa* is presumed, which represents the species with the best adaptation and with high potential for the degradation of hydrocarbons.

Keywords: bioremediation, *Pseudomonas* spp., oil, contaminated soil

INTRODUCCIÓN

La industria petroquímica es parte fundamental de la economía en Ecuador, no obstante, la falta de un programa de protección ambiental hace que el medio se vuelva más frágil ante el impacto ocasionado por los desechos generados por las gasolineras, lubricadoras y mecánicas. En Quevedo, de forma particular, estos desechos son descargados en los efluentes del Río Quevedo, ocasionando daño ambiental (Gavilanes-Osorio, 2013).

Para solucionar estos daños, regularmente se han utilizado dispersantes químicos para la remediación de los ambientes contaminados con petróleo, sin embargo, estos pueden causar un mayor impacto ecológico que el mismo derrame, por su alta toxicidad (Sirvins y Tramier, 1993).

Una mejor alternativa de solución es la biorremediación, que se define como una tecnología emergente que aprovecha la capacidad metabólica de los microorganismos (levaduras, bacterias, hongos, microalgas) para degradar, biotratar o realizar ambas cosas a estos contaminantes (Pérez *et al.*, 2008). En suelos contaminados las comunidades microbianas exhiben un dominio por parte de los organismos con la capacidad de subsistir a los compuestos tóxicos. Cuando tal dominio es efectuado por bacterias Gram negativas (sobre todo *Pseudomonas*), éstas tienden a ejercer superioridad en el sistema. *Pseudomonas* spp. son bacterias con la capacidad de fabricar biosurfactantes los cuales intervienen en el proceso de extracción de aceites y derivados, facilitan el ingreso de los hidrocarburos por pared celular. Además envuelve plásmi-

dos catabólicos con genes, que codifican para enzimas involucradas en la degradación de componentes tóxicos, también poseen operones, transposones y plásmidos que facilitan el traspaso de genes lo que posibilita que adaptan fácilmente a ambiente contaminados (Romero *et al.*, 2008).

Existen varias especies de *Pseudomonas* que intervienen en el ciclo del carbono en la naturaleza, lo que los hacen organismos versátiles para la degradación de compuestos de alto y bajo peso molecular. En el caso del petróleo; contienen en su membrana citoplasmática enzimas degradadoras de hidrocarburos (Benavides *et al.*, 2006; Alanis y Guerrero, 2004). Se ha encontrado el potencial biodegradador de ciertas especies de *Pseudomonas* spp. Poseen la capacidad de degradar compuestos procedentes del petróleo, como los n-alcános, naftalenos y tolueno (Benavides *et al.*, 2006).

La selección de microorganismos a través de pruebas sucesivas de crecimiento poblacional en cultivos puros ricos en petróleo, es una estrategia eficiente para evaluar la adaptación y supervivencia de cepas tolerantes a elevadas concentraciones de hidrocarburos. Los resultados de estas pruebas confirman la selección de las cepas más tolerantes y adaptadas, dependiendo de estas el éxito en las siguientes etapas de tratamiento tanto de suelos como de aguas contaminadas con aceites industriales (Pérez *et al.*, 2008). Por tanto, el objetivo de la presente investigación fue aislar y seleccionar cepas de *Pseudomonas* spp. con potencial para biodegradar fracciones de petróleo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización de los sitios de monitoreo

Las muestras de suelo se tomaron de tres sitios distintos en Ecuador: de suelos contaminados con hidrocarburo de aceite industrial de la “Lubricadora Herrera” situada en el km 1 vía al Empalme, de agua contaminada con hidrocarburo de aceite automotriz de la “Lubricadora Chicho” de la parroquia San Camilo y de petróleo oriundo de la región de la Amazonía.

Aislamiento y purificación de cepas bacterianas con capacidad para biodegradar fracciones de petróleo

El aislamiento de cepas bacterianas degradadoras de petróleo se llevó a cabo por el método de enriquecimiento secuencial (Pérez *et al.*, 2008), empleando como fuente de carbono y energía crudo de petróleo. Para esto se empleó el medio King B líquido selectivo para *Pseudomonas* spp. [(g/L): peptona, 20,0; glicerol, 15 mL; K_2HPO_4 , 1,5; $MgSO_4 \times 7H_2O$, 1,5; agar, 15; agua destilada (pH 7,2)], por 48 h. Se añadió un volumen de hidrocarburo (1:1) al medio de cultivo como fuente de carbono. Los componentes del medio se esterilizaron en autoclave a 120°C durante 20 min. Los 50 mL del medio se usaron para preparar el pre-inóculo; sometido a 24 h de incubación.

Para la purificación de la población microbiana, se utilizó el método de recuento directo en microscopio óptico (Olympus BH-2). Brevemente, se recuperó 50 µL de la muestra contaminada y fue incubada en el medio de cultivo antes mencionado. Las muestras se sometieron a crecimiento bacteriano en el medio de cultivo King B + hidrocarburo, se realizaron tres pasos de selección con un periodo de 15 días de incubación. Posteriormente, las muestras contaminadas se incubaron en Erlenmeyer con 100 ml, y se dejaron por 5 días. De este medio de cultivo se recuperaron 100 µL, que posteriormente se incubaron por 5 días. Este procedimiento se realizó en triplicado hasta alcanzar los 15 días de incubación. Se realizó una dilución de 1/10.000.000, del inóculo principal crecido a los 15 días. De la dilución y esta muestra se distribuyeron en medio sólido King B para obtener colonias bacterianas correspondientes. Las cepas se almacenaron en glicerol a -40°C.

Selección de bacterias con potencial para degradar hidrocarburos

El crecimiento de las cepas purificadas anteriormente se evaluó en un periodo de 72 horas empleando

como medio de cultivo el medio sólido descrito anteriormente, incluyendo en la superficie 500 µL de hidrocarburo. Brevemente, se activaron las cepas, previamente almacenadas, en medio de cultivo caldo King B, posteriormente se inocularon en cajas Petri con medio sólido descrito anteriormente, una vez crecidas se utilizó un sacabocados para tomar un disco de agar del crecimiento de cada cepa (0,5 cm) y se ubicaron en el centro de la placa Petri. Finalmente, se evaluó el crecimiento bacteriano a 24, 48 y 72 horas, como efecto de adaptación al medio y uso del hidrocarburo como fuente de energía. Esto se realizó por triplicado para cada cepa seleccionada.

Caracterización de las cepas seleccionadas

Se realizó una caracterización morfológica de cada una de las cepas purificadas, esto incluyó forma de colonia: circular, puntiforme, irregular y fusiforme; borde de la colonia: entera, ondulado, lobulado y filamentosos; y elevación de la colonia: plana, convexa y elevada. Además, se hizo tinción de Gram, emisión de fluorescencia y prueba de catalasa. Para la filogenia de las cepas, se empleó el método *Neighbor-Joining*, el árbol filogenético se construyó en base a los caracteres morfológicos, transformando los datos en una matriz binaria de valores 1 y 0 (1= T, 0= A). Se empleó el software MEGA 6.06.

Análisis estadístico

Para cada grupo de datos se determinó la normalidad usando la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene. Se realizaron Análisis de Varianzas (ANOVA) de un factor para conocer si hay diferencias significativas entre los tratamientos, en crecimiento y halos de degradación de cada una de las cepas seleccionadas. Además, se realizó un análisis *post hoc* usando la prueba de Tukey (DHS) para identificar las diferencias entre los grupos. El nivel de significación se fijó en 0,05 para todos los análisis.

RESULTADOS

Aislamiento y purificación

Del consorcio bacteriano generado a los 15 días en el medio de cultivo King + hidrocarburo, se recuperaron 5 µL, donde esta muestra fue diluida en 1/10⁷. De las muestras de suelo, agua y el derrame de crudo de petróleo se logró purificar 15 cepas con potencial capacidad para degradar hidrocarburos (Tabla 1).

Tabla 1. Selección de colonias bacterianas con tolerancia a hidrocarburos en suelos contaminados en Quevedo, Ecuador.

Table 1. Selection of bacterial colonies with hydrocarbons tolerance in contaminated soils in Quevedo, Ecuador.

ZONA DE MUESTRAS	
Suelo contaminado con hidrocarburo	
SRP - 1/5	SRP - 1/9
SRP - 1/7	SRP - 1/10
SRP - 1/8	SRP - 1/12
Agua contaminada con hidrocarburo	
ARP - 2/1	ARP - 2/5
ARP - 2/2	ARP - 2/7
ARP - 2/3	ARP - 2/8
ARP - 2/4	ARP - 2/9
Derrame de crudo de petróleo	
DRP - 6/6	

Selección de bacterias

Durante el crecimiento bacteriano se encontraron diferencias significativas a las 24, 48 y 72 horas. A las 24 horas de evaluación se observó el mayor crecimiento bacteriano por la cepa aislada de derrame de petróleo DRP-6/6. De las muestras de agua contaminadas con hidrocarburos se visualizaron halos de crecimiento bacteriano para las colonias ARP (2/1, 2/2, 2/3), con un halo de crecimiento superior a $2,0 \pm 2,5$ mm (Fig. 1).

Las cepas de mayor adaptabilidad al hidrocarburo resultaron ser de las muestras provenientes de agua contaminada con hidrocarburos para la selección de las cepas DRP (6/6) y ARP (2/1, 2/2, 2/3) y observando muy poco crecimiento para el resto de las cepas, particularmente de las provenientes de suelo contaminado con los hidrocarburos. A las 48 horas de evaluación la cepa ARP-2/1, fue la de mayor crecimiento ($10,0 \pm 3,9$ ml). También, se observó incremento en crecimiento de las cepas ARP-2/2 y ARP-2/3 con el halo de crecimiento bacteriano de $7,2 \pm 4,0$ y $8,2 \pm 2,1$ mL (Fig. 2).

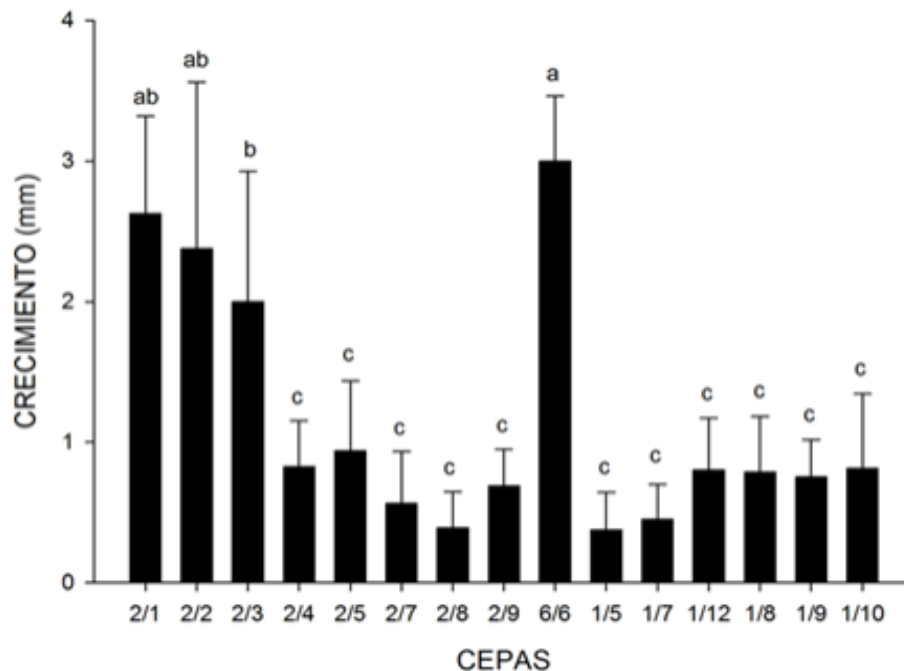


Figura 1. Crecimiento de cepas en medio de cultivo con hidrocarburo en condiciones *in vitro* a las 24 horas. Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas para $p < 0,05$, según el procedimiento de comparación múltiple de Tukey.

Figure 1. Strain growth in media culture with hydrocarbons *in vitro* at 24 hours. Values with same letter do not show statistical differences at $p < 0.05$, according to Tukey multiple comparison test.

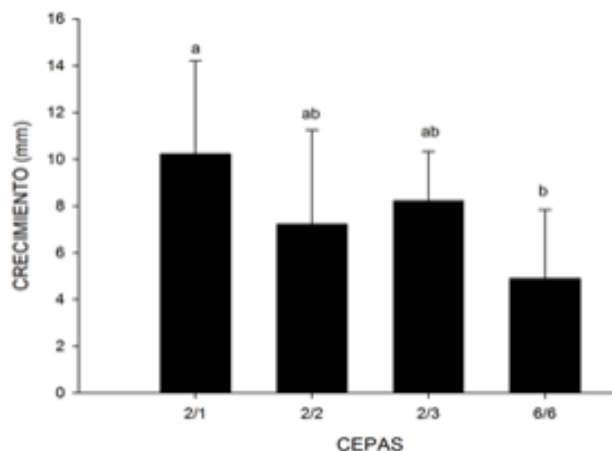


Figura 2. Crecimiento de cepas en medio de cultivo con hidrocarburo en condiciones *in vitro* a las 48 horas. Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas al nivel de ($P \leq 0.05$), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey.

Figure 2. Bacterial strain growth in culture media with hydrocarbons *in vitro* at 48 hours. Values with same letter do not show statistical differences at $p < 0.05$, according to Tukey multiple comparison test.

Finalmente, a las 72 horas se observó un incremento de crecimiento de las cepas ARP-2/1, ARP-2/2 y ARP-2/3, con valores de $12,4 \pm 4,3$; $11,1 \pm 3,6$ y $12,3 \pm 2,1$ mm (Fig. 3).

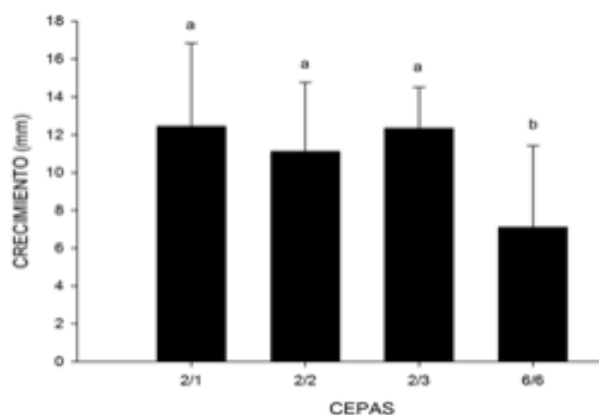


Figura 3. Crecimiento de cepas en medio de cultivo con hidrocarburo en condiciones *in vitro* a las 72 horas. Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas al nivel de ($P \leq 0.05$), por el procedimiento de comparación múltiple de Tukey.

Figure 3. Bacterial strain growth in culture media with hydrocarbons *in vitro* at 72 hours. Values with same letter do not show statistical differences at $p < 0.05$, according to Tukey multiple comparison test.

Caracterización de cepas

De las muestras con rastros de contaminación con hidrocarburos, de suelo, agua, derrame de petróleo, se realizó el aislamiento y selección de 15 colonias bacterianas, de las cuales 11 colonias bacterianas presentaron forma circular y 3 de ellas forma granular. Se observaron 12 colonias con elevación y tres de forma plana. Nueve de las colonias mostraron margen entero y seis con margen ondulado. Las 15 cepas bacterianas presentaron una tinción Gram negativa y resultaron positivas para la prueba de catalasa. Adicionalmente, se observó emisión de fluorescencia para cuatro de las colonias bacterianas (SRP-1/12, ARP-2/1, ARP-2/2 y DRP-6/6) (Tabla 2).

Finalmente, a partir de los caracteres morfológicos y bioquímicos se generó un dendrograma que representó cuatro grupos. El Grupo A sin capacidad degradadora al aceite mineral automotriz, con colonias bacterianas procedentes de muestras de agua (ARP-2/8 y ARP-2/9) y suelo (SRP-1/10, SRP-1/5 y SRP-1/7) contaminadas con hidrocarburos. En el grupo B están estrechamente relacionadas las cepas SRP-1/9 y SRP-2/7, carentes de crecimiento bacteriano en el hidrocarburo. También se observó relación en una de las cepas procedentes de la muestra de agua, con capacidad degradadora, como es la colonia ARP-2/3. El grupo C estuvo conformado por dos cepas ARP-2/1 y ARP-2/2, con la mayor actividad degradadora observada en los experimentos. Finalmente, el grupo D contiene a la cepa bacteriana DRP-6/6 con capacidad degradadora, recuperada de muestras de derrames de crudo de petróleo. El resto de las cepas no presentaron capacidad de crecimiento bacteriano bajo la presencia del hidrocarburo (Fig. 4).

DISCUSIÓN

Las bacterias son el grupo microbiano más usado en la biorremediación (Atlas y Bartha, 2013) y particularmente para la biodegradación de los hidrocarburos, presentando capacidad de crecer y emulsificar hidrocarburos derivados del petróleo (Dejonghe *et al.*, 2002). Entre los géneros más estudiados destacan *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp., ya que estos pueden crecer en las interfaces y producir exopolímeros para adherirse, o producir tensoactivos y bioemulsificantes que disminuyen la tensión superficial entre el petróleo y el medio acuoso, facilitando el acceso microbiano a la fuente de carbono insoluble para su degradación (Pérez *et al.*, 2008).

Tabla 2. Identificación de caracteres morfológicos y bioquímicos de las colonias bacterianas degradadoras de hidrocarburos, aisladas en Quevedo, Ecuador.

Table 2. Identification of morphological and biochemical characteristics of the bacterial colonies that degrade hydrocarbons, isolated in Quevedo, Ecuador.

No.	Muestras	Tinción De Gram		Catalasa	Forma Circular	Forma Filamentosa	Forma Granular	Elevación Plana	Elevada	Elevación Convexa	Margen Entera	Margen Ondulada	Margen Lobulada	Margen Dentada	Fluorescencia
		(+)	(-)												
1	SRP-1/5	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
2	SRP-1/7	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
3	SRP-1/8	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
4	SRP-1/9	0	1	++	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
5	SRP-1/10	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
6	SRP-1/12	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
7	ARP-2/1	0	1	+	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
8	ARP-2/2	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
9	ARP-2/3	0	1	++	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
10	ARP-2/4	0	1	++	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
11	ARP-2/5	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
12	ARP-2/7	0	1	+	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
13	ARP-2/8	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
14	ARP-2/9	0	1	+	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
15	DRP-6/6	0	1	+	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1

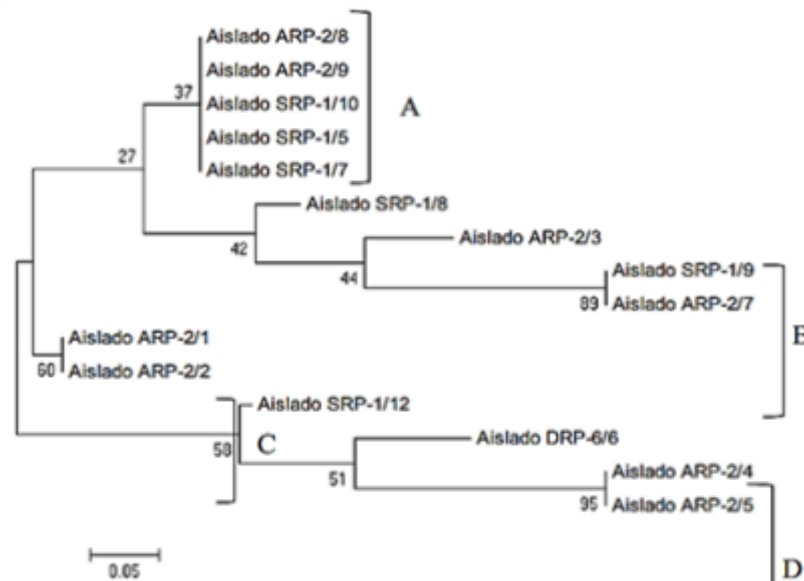


Figura 4. Relación filogenética de aislados nativos asociados a degradación de hidrocarburos. Dendrograma construido a partir de datos de caracteres morfológicos y bioquímicos de muestras contaminadas con restos de hidrocarburos. La distancia evolutiva se dedujo empleando el método *Neighbor-Joining*. El árbol filogenético se construyó empleando *Maximum Composite Likelihood*.

Figure 4. Phylogenetic relationships of native isolates associated to hydrocarbons degradation. Dendrogram built with data of morphological and biochemical characteristics of samples contaminated with hydrocarbons residues. Evolutive distances was obtained using *Neighbor-Joining* method. Phylogenetic tree was build using *Maximum Composite Likelihood*.

En el presente trabajo se aislaron y purificaron 15 cepas bacterianas en medio específico para *Pseudomonas* spp. La selección de bacterias con el método utilizado, favorece a la generación de biomasa microbiana, observando a los 15 días de incubación el incremento de colonias en este medio de cultivo. La selección de microorganismos a través de pruebas sucesivas de crecimiento poblacional en cultivos puros enriquecidos con petróleo, es considerada como una estrategia eficiente para evaluar la adaptación y supervivencia de cepas tolerantes a concentraciones de petróleo (Pérez *et al.*, 2008; Pucci *et al.*, 2010; Ospina *et al.*, 2011).

A partir del proceso de adaptación al medio, se purificaron y seleccionaron las cepas ARP (2/1, 2/2 y 2/3) y DRP (6/6), ya que en estas se obtuvo un incremento significativo de masa celular a las 24,48 y 72 horas sobre la superficie del medio que contenía el hidrocarburo. Se ha demostrado el incremento de biomasa celular a las 24 horas donde inicia la primera fase de crecimiento, capaz de crecer sobre petróleo como única fuente de carbono y energía (Pérez *et al.*, 2008).

De acuerdo a la caracterización realizada las cepas seleccionadas resultaron Gram negativas, respecto a esto se puede mencionar que estos microorganismos se adaptan más rápidamente a nuevas condiciones de cultivo (Atlas y Bartha, 2003), debido a la presencia de lipopolisacáridos en su membrana, que facilitan la formación y estabilización de emulsiones de hidrocarburos en sistemas acuosos y contribuyen al incremento en la superficie de ataque del contaminante (Ueno *et al.*, 2006). Así mismo, las cepas con mayor capacidad de crecimiento (ARP-2/1, ARP-2/2, ARP-2/3 y DRP-6/6), resultaron catalasa positivo. Los ensayos de catalasa permiten diferenciar *Pseudomonas* spp. (oxidasa+) de otras especies de *Pseudomonas* y de otros bacilos gramnegativos (oxidasa-) (Mayz y Manzi, 2017). Cabe indicar que las bacterias que mostraron tener fluorescencia al ser cultivadas en el medio King B, fueron las cepas SRP-1/12 y las dos cepas con mayor adaptación en el medio con hidrocarburo ARP-2/1, ARP-2/2 y DRP-6/6.

La características morfológicas y bioquímicas de las cepas seleccionadas, concuerdan con la presencia de bacterias del género *Pseudomonas* spp. y particularmente de la especie *Pseudomonas aeruginosa*, sobre todo por la producción de catalasa y proteasa. Por la capacidad degradadora de gran cantidad de sustratos como el n-hexadecano, mineralización de compuestos

alifáticos en condiciones anaerobias, y degradadora de hidrocarburos aromáticos y poli aromáticos (Chayabatra y Ju, 2000; de Mesa *et al.*, 2006), esta especie es una de las bacterias más usadas y estudiadas en biorremediación (Pérez *et al.*, 2008; Ospina *et al.*, 2010; Huaranga *et al.*, 2017). Sin embargo, esta especie también es conocida por su patogenicidad en humanos, causante de enfermedades muy graves (Oliver *et al.*, 2000). Por estas razones existe mucho interés en el estudio de las relaciones filogenéticas entre serotipos clínicos y ambientales (de Mesa *et al.*, 2006).

Finalmente, se observó durante la agrupación de las cepas seleccionadas, de acuerdo a la caracterización, que las cepas ARP-2/1, ARP-2/2 mantienen una relación estrecha, lo cual podría inferir que ambas cepas podrían ser la misma especie y/o contar con las mismas características con potencial para degradar hidrocarburos. Por esto, se propone la selección de estas cepas para realizar un estudio de biodegradación de hidrocarburos *in vitro* e *in situ*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Antonio Mendoza y Eduardo Solís, del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ). A Roque Vivas, Carlos Zambrano y Carmen Parraga, de la UTEQ, por el apoyo durante la presente investigación y a Silvia Saucedo y Nicolás Cruz por los aportes realizados durante la investigación. Finalmente, a Enma Moran y Ana María Miquinga, estudiantes de la carrera de Agronomía, por la colaboración en el trabajo de laboratorio.

LITERATURA CITADA

- Alanis, G. E. y L. I. Guerrero (2004) *Pseudomonas* en biotecnología. Rev. Biotecnol, 9: 26-37.
- Atlas, R. y R. Bartha (2003) Ecología fisiológica de los microorganismos: adaptaciones a las condiciones ambientales. En: Capella I, editor. Ecología microbiana y microbiología ambiental Addison Wesley Press. 279-327 pp.
- Benavides, L. J., Quintero, G., Ostos, O. (2006). Aislamiento e identificación de diez Bacterias desnitrificantes a partir de un suelo Agrícola contaminado con abonos nitrogenados proveniente de una finca productora de cebolla. Nova - Publicación Científica 4 (006): 50-54.
- Chayabatra Ch. y L.K. Ju (2000) Degradation of n- hexadecane and its metabolites by *Pseudomonas aeruginosa* under microaerobic and anaerobic denitrifying conditions. Appl. Env. Microb. 66: 493.
- de Mesa, J. B. L., G. Quintero, A. L. G. Vizcaíno, D. C. J. Cáceres,

- et al.* (2006) Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova*. 4(5): 82-90.
- Dejonghe, W., E. Berteloot, J. Goris, N. Boon, *et al.* (2002) Synergistic degradation of linuron by bacterial consortium and isolation of a single linuron-degrading *Variovorax* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1532, 2003.
- Romero, S.E.G., D.C.G. Bustos, A.M.H. Marín, C.Z.H. Rodríguez, M. L. Casallas y P. C. M. Vargas (2008) Factores bióticos y abióticos que condicionan la biorremediación por *Pseudomonas* en suelos contaminados por hidrocarburos. *Nova* 6(9): 76-84.
- Gavilanes-Osorio, M. N. (2013) Ley de gestión ambiental y su incidencia en la contaminación de las empresas en la ciudad de Quevedo. Tesis de Licenciatura, Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador.
- Huaranga, Y.C., V.Q. Surco y S.E.C. Liza (2017) Biorremediación mediante la asociación entre microorganismos y plantas. Repositorio de revistas de la universidad privada de Pucallpa. 1(02).
- Mayz, J. y L. Manzi (2017) Bacterias hidrocarburoclásticas del género *Pseudomonas* en la rizosfera de *Samanea saman* (Jacq.) Merr. *Rev. Colomb. Biotecnol.* 19(1): 29-37.
- Oliver, A., R. Cantón, P. Campo, F. Baquero, *et al.* (2000) High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science*, 288(5469): 1251-1253.
- Ospina, M. C., Jaramillo, G. E. E., y Paba, G. M. (2010). Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la Bahía de Cartagena, Colombia. *Nova*, 8(13): 76-86.
- Pérez, R.M., M.I. Camacho, J. M. Gómez, A. Ábalos, *et al.* (2008) Aislamiento y selección de una cepa bacteriana degradadora de hidrocarburos a partir de suelos contaminados con petróleo. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. 39(1).
- Pucci, N., A. Acuña, N. Tonin, C. Tiedemann, *et al.* (2010) Diversidad de bacterias cultivables con capacidad de degradar hidrocarburos de la playa de Caleta Córdova, Argentina. *Rev.Peru.Biol.* 17(2):237-244.
- Sirvins A. y B. Tramier (1993) La biodegradación de los hidrocarburos. *Mundo Científico*, 54: 46.
- Ueno, A.; H. Hasanuzzaman, I. Yumoto y H. Okuyama (2006) Verification of degradation of n-Alkanes in diesel oil by *Pseudomonas aeruginosa* strain WatG in soil microcosms. *Current Microbiology*. 52: 182-185.



Editor para correspondencia: Dr. Dennis Denis Ávila