

Identificación de bacterias degradadoras de petróleo en ecosistema acuático de una actividad petrolera de Coronel Portillo-Ucayali

Identification of oil-degrading bacteria in the aquatic ecosystem of an oil activity of Coronel Portillo-Ucayali

Ruth Leslie Llanco Palomino¹; Bryan Israel Reátegui Del Águila¹; Paul Kevin Reátegui Ramos¹
y Dina Pari Quispe¹

¹Universidad Nacional de Ucayali. Pucallpa - Perú. Email: paulreateguiramos@gmail.com

Resumen

La investigación consistió en la identificación de bacterias degradadoras de petróleo en un ecosistema acuático impactada por actividad de hidrocarburo en el distrito de Callería, Provincia de Coronel Portillo, Región Ucayali. Las muestras tomadas fueron provenientes de la quebrada Anis Caño que atraviesa la empresa MAPLE GAS, de lo cual para las muestras se seleccionaron el punto 01 con coordenadas 08°23'28"S, 74°31'53"W, y punto 02, con coordenadas 08°23'36"S, 74°31'55"W, se aplicó el método de investigación exploratorio. Las muestras se sometieron a pre - enriquecimiento por una semana, a enriquecimiento por tres semanas y un proceso de identificación bioquímica, donde se evidenciaron cambios en las propiedades crudo del petróleo, como la turbidez y agregados blancos por crecimiento bacteriano. Como resultado se identificaron cinco (05) géneros bacterianos: (i) *Pseudomonas aeruginosas*, (ii) *Serratia sp.*, (iii) *Enterobacter sp.*, (iv) *Citrobacter sp.*, (v) *Acinetobacter sp.*, de los cuales, el de mayor predominancia en casi todas las muestras fue *Pseudomonas aeruginosas*, confirmando su gran capacidad de adaptación en ambientes contaminados de este tipo.

Palabras clave: Enriquecimiento, crecimiento bacteriano, géneros bacterianos.

Abstract

The investigation consisted of the identification of petroleum degrading bacteria in an aquatic ecosystem impacted by hydrocarbon activity in the district of Callería, Province of Coronel Portillo, Ucayali region. The samples taken were from the Anis Caño stream that crosses the MAPLE GAS company, from which for the samples point 01 was selected with coordinates 08°23'28 "S, 74°31'53" W, and point 02, with coordinates 08°23 ' 36 "S, 74°31'55" W, the exploratory research method was applied. The samples were subjected to pre - enrichment for one week, to enrichment for three weeks and a biochemical identification process, where changes in crude oil properties, such as turbidity and white aggregates due to bacterial growth, were evidenced. As a result, five (05) bacterial genera were identified: (i) *Pseudomonas aeruginosa*, (ii) *Serratia sp.*, (iii) *Enterobacter sp.*, (iv) *Citrobacter sp.*, (v) *Acinetobacter sp.*, of which, the most predominant in almost all samples it was *Pseudomonas aeruginosas*, confirming its great adaptability in contaminated environments of this type.

Keywords: Enrichment, Bacterial growth, bacterial genres



Introducción

El petróleo representa la mayor fuente energética y la base para la obtención de materias primas para la industria. Su explotación, transporte y refinación generan problemas ambientales, especialmente por derrames accidentales y de prácticas inadecuadas de eliminación de fuentes, como industrias y refinerías de petróleo (Alsaleh et al., 2009). Los derrames accidentales a gran escala presentan un volumen significativo de contaminantes en todo el mundo. Lastimosamente, son varios los ejemplos que se pueden citar, entre estos está el derrame del Exxon Valdez en Alaska en 1989 y el derrame de BP Deepwater Horizon en el Golfo de México en 2010 catalogados como los dos peores desastres ambientales en la historia de los Estados Unidos que aún están afectando algunos de los ecosistemas marinos más productivos y vulnerables (Spier y Otros, 2013). Así genera de esta manera graves consecuencias ambientales tanto en la flora como en la fauna (Díaz-Martínez et al., 2013). En los últimos años, la ecología microbiana ha direccionado esfuerzos en determinar cuáles son los microorganismos capaces de adaptarse y de explorar hábitats contaminados; para ello, han sido desarrollados estudios de diversidad, dinámicas poblacionales y de comunidades

presentes especialmente aquellas relacionadas con asociaciones de bacterias biodegradadoras (Bracho et al., 2004). Para restaurar ambientes contaminados con crudo se han utilizado diversas estrategias, las cuales se seleccionan de acuerdo con las características y condiciones del área contaminada. El uso de microorganismos, plantas y enzimas como catalizadores para la degradación de hidrocarburos se ha perfilado como una alternativa cada vez más utilizada en la industria petrolera (Martínez et al., 2011)

Las investigaciones con fines de dar solución a la contaminación del petróleo, identificándose a los factores biológicos un recurso importante en la eliminación de contaminantes que se encuentran en la diversidad de especies microbianas y sus capacidades metabólicas. Existen bacterias capaces de utilizar petróleo para su crecimiento y mantenimiento, conocidas como bacterias degradadoras de hidrocarburos (Mackey y Hoddgkinson, 1996). En los últimos años, la ecología microbiana ha direccionado esfuerzos en determinar cuáles son los microorganismos capaces de adaptarse y de explorar hábitats contaminados; para ello, han sido desarrollados estudios de diversidad, dinámicas poblacionales y de comunidades presentes especialmente aquellas relacionadas



con asociaciones de bacterias biodegradadoras (Bracho et al., 2004)

Los numerosos procesos de biorremediación por bioaumentación pueden aplicarse utilizando bacterias tanto aerobias como anaerobias. Sin embargo, la mayoría de las investigaciones reportadas se centran en las bacterias de tipo aerobio (Xu y Lu, 2010) (Vennila y Kannan, 2011) (Lakshmi, 2013).

Algunos de los factores limitantes en el uso microorganismos libres son, entre otros, la falta de control sobre el crecimiento bacteriano luego de su aplicación, la pérdida significativa de biomasa, la susceptibilidad a los cambios de temperatura, pH, humedad y oxigenación. Otra desventaja importante del uso de bacterias libres es la exposición de los microorganismos a un ambiente relativamente hostil. En este sentido, el número y la eficiencia de los microorganismos viables con capacidad degradadora de hidrocarburos son afectados cuando contaminantes tóxicos están presentes en altas concentraciones o por competencia directa con otros microorganismos nativos (López, y otros, 2006), (Xu y Lu, 2010) y (Malik y Ahmed, 2012)

Metodología

Zona de estudio: El presente trabajo de investigación se llevó a cabo a en el laboratorio de microbiología y parasitología de la universidad nacional de Ucayali. La recolección de muestras de agua impactada por actividades hidrocarburifera, fueron obtenidas de la quebrada “Anis Caño” que discurre por medio de la refinería MAPLE GAS CORPORATION DEL PERU S.R.L, ubicada en el Jr. Padre Aguerribabal 260, Pucallpa 25001, distrito de Coronel Portillo.

Medición de parámetros fisicoquímicos: Para el análisis de las condiciones in situ de las muestras de agua superficial y sedimentos, se procedió a la medición de los parámetros fisicoquímicos con el equipo Multiparametro marca HANNA – HI 9813-6 y Multiparametro marca HANNA- HI 9146. (pH, temperatura y oxígeno disuelto).

Etapa Pre-enriquecimiento: El pre enriquecimiento se llevó a cabo con la preparación del caldo pre enriquecido, conteniendo 0,9 mg/l de $(\text{NH}_4) \text{H}_2\text{PO}_4$ (Echeverri et al., 2010). Se colocó 9 ml de caldo pre enriquecido en 55 tubos, luego estos fueron esterilizados en una autoclave durante 50 minutos a 15 psi a una presión de 120°C. Para garantizar la esterilización se deja en reposo por 24 horas, comprobándose así que el medio no reaccione a la presencia de

microorganismos, verificándose la turbidez visible que sea baja.

Inoculación

Agua superficial: Se tomó 1 ml de la muestra y se agregó a los 25 tubos con caldo de pre-enriquecimiento. Finalmente, se lo dejó en la máquina de agitación (baño María) por 7 días a una temperatura de 34,5°C.

Sedimento: Se diluyó 5 g de sedimento en 100 ml de agua destilada, con agitación por 15 minutos, 1 ml de la dilución anterior se agregó en el tubo con caldo de pre-enriquecimiento (Echeverri et al., 2010). Finalmente, se lo dejó en la máquina de agitación (baño María) por 7 días a una temperatura de 34,5°C.

Concluido los 7 días de incubación con el caldo de pre-enriquecimiento, se seleccionaron los tubos con mayor presencia de microorganismos.

Enriquecimiento: El caldo de enriquecimiento se preparó con sales grado pureza, K_2HPO_4 : 1,5 g/L; KH_2PO_4 : 0,5 g/L; $(NH_4)_2SO_4$: 0,5 g/L; NaCl: 0,5 g/L; $MgSO_4$: 3,0 g/L; $FeSO_4$: 0,002 g/L; $CaCl_2$: 0,002 g/L, todos en 1,000 ml de agua destilada, suplementados con crudo de petróleo al 1% (Echeverri et al., 2010).

La fase de enriquecimiento constó de un proceso de tres semanas. Inicialmente, pasados 7 días de incubación de las muestras pre-enriquecidas, se tomó 1 ml de estas y se sembraron cada uno en tubos con caldo de enriquecimiento (caldo mineralizado + 1% de petróleo crudo). Se incubaron a 37°C por 7 días con agitación continua. Este mismo procedimiento se realizó a los 14 y a los 21 días (Echeverri et al., 2010).

Aislamiento de bacterias degradadoras de hidrocarburos: Para el aislamiento de las bacterias se tomó 1 ml de las muestras obtenidas en la etapa de enriquecimiento sembrándose en 24 placas Petri con el medio mineralizado de agar pre enriquecido, estas fueron incubadas a 37°C por 7 días.

Identificación bioquímica: Para la identificación bioquímica se consideró lo obtenido del proceso de la etapa de enriquecimiento, reconociéndose los tubos de muestras con mayor turbiedad.

Para la identificación bioquímica de las cepas se utilizaron pruebas bioquímicas las cuales consisten en distintos test químicos aplicados a medios biológicos, los cuales, conocida su reacción, permite identificar distintos microorganismos presentes. Su sistema de funcionamiento generalmente consiste en

determinar la actividad de una vía metabólica a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer incorpora o no (Madigan, Martinko, & Parker, 2000).

En este caso se a partir de cada cepa aislada se sembraron pruebas bioquímicas de Catalasa, Citrato, LIA (Lisina, Hierro Agar), y TSI (Triple Azúcar Hierro) para determinar el metabolismo de los microorganismos aislados.

Resultados y discusión

Tipos de bacterias identificadas

En la identificación bioquímica de las 24 cepas bacterianas seleccionadas de las muestra de agua superficial y sedimentos se verifico la existencia del género bacteriano *Pseudomonas aeruginosa* con un 58,3% (14 tubos), con un 20,8% (5 tubos) del género bacteriano *Acinobacter sp.*, 8,3% (2 tubos, respectivamente) del género bacteriano *Enterobacter sp.* y *Serratia sp.*, y con 4,2% (1 tubo) del género bacteriano *Citrobacter sp.*

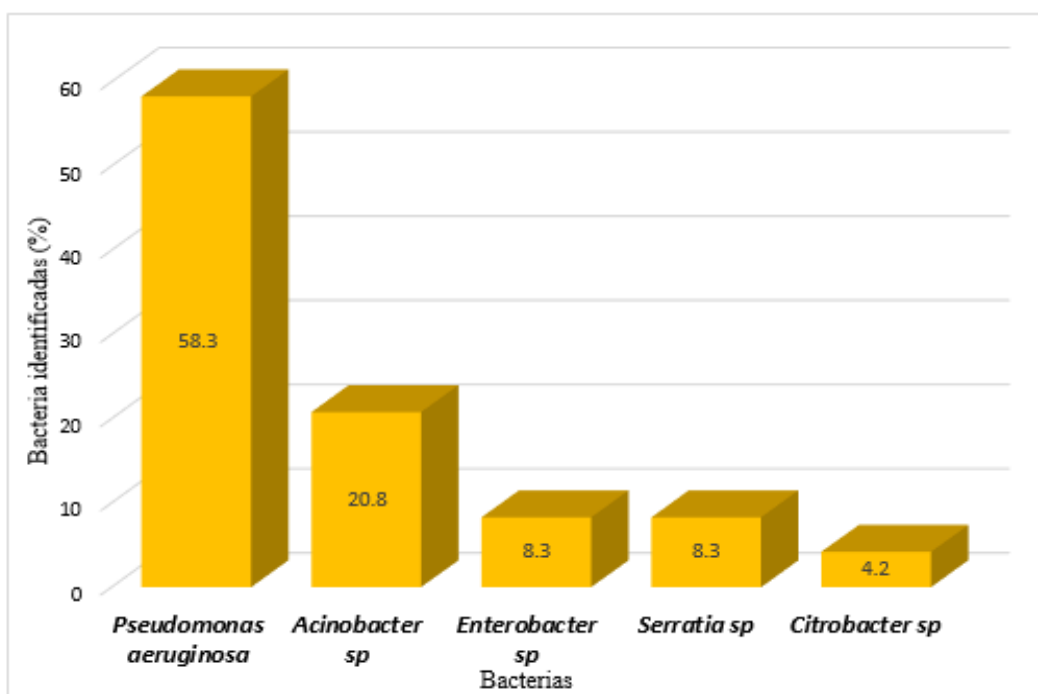


Figura 1. Porcentaje de bacterias identificadas

La presencia de la *Pseudomonas sp* y *Acinetobacter sp*, en lodos de cuerpos de aguas contaminados con hidrocarburos son

microorganismos usados comúnmente para la bioremediacion de zonas contaminadas, como (Vásquez, Guerrero Figueroa, & Quintero,



2010) identificaron cepas microbianas con capacidad degradadora de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) como *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter spp.*, *Bacillus brevis*, *Micrococcus spp* y *Nocardia spp.* Se analizó la variable continua TPH, se obtuvieron porcentajes de remoción hasta de 94% de TPH en 120 días y 84% en 40 días, lo que reflejó un efecto positivo en la utilización de los consorcios de microorganismos bajo prueba en la descontaminación de lodos.

Las bacterias Gram negativas como es el caso del *Acinetobacter sp.*, reconocida por su capacidad degradativa de hidrocarburos alifáticos de petróleo, de igual manera las

especies de *Pseudomonas sp.* presentan cepas Gram negativas que son reconocidas por degradar hidrocarburos aromáticos derivados del petróleo, ambas especies requieren condiciones aeróbicas (Lahura Albújar & Borda Luna, 2015).

Bacterias identificadas en sedimentos

La bacteria identificada en los sedimentos se muestra en la tabla 1, donde 7 de 12 muestras de lodos presentaron a la *Pseudomonas aeruginosa* como bacteria dominante, así mismo 5 de 12 muestras presentaron a la *Acinetobacter sp* como bacteria dominante, sin presencia dominante de *Serratia sp*, *Enterobacter sp* y *Citrobacter sp*.

Tabla 1
Bacterias identificadas en sedimentos

N°	Código	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Serratia sp</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Citrobacter sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>
1	L1 1.1	X				
2	L1 1.2.					X
3	L1 1.3					X
4	L1 1.4	X				
5	L1 1.5					X
6	L1 1.6	X				
7	L2 2.1	X				
8	L2 2.2	X				
9	L2 2.3					X
10	L2 2.4	X				
11	L2 2.5					X
12	L2 2.6	X				



Los lodos comúnmente son ambientes anaeróbicos, pero la *Pseudomonas* poseen un metabolismo aerobio estricto con el oxígeno como aceptor final de electrones, aunque algunos pueden crecer lentamente en condiciones anaerobias utilizando el nitrato (NO_3) o la arginina como aceptores finales de electrones (Palleroni, N.J., 2005). Siendo que la *Pseudomonas* es un género de especies capaces de utilizar un amplio rango de compuestos, tanto orgánicos como inorgánicos, y capaces de vivir bajo muy diversas condiciones ambientales. Debido a esta característica, estos microorganismos son muy ubicuos, y podemos encontrarlos tanto en los ecosistemas terrestres como acuáticos (Palleroni, 1992) y (Schroth, Hildebrand, & Panopoulos, 1992). Esto hace que el género *Pseudomonas* es muy versátil nutritivamente, y algunas especies pueden utilizar carbohidratos, alcoholes y aminoácidos como fuente de carbón (Ruiz Martinez, 2007).



Figura 2: Placa día 1 para inoculada con muestra de bacterias degradadoras de petróleo de lodos

Las bacterias degradadoras de petróleo pueden actuar en ambientes Aerobios o Anaerobios, y que cada caso lo hacen vía diferentes rutas metabólicas (Maposita, Fiallos, & Calle, 2010).

Como se aprecia en la comparación de las placas en el día 1 y 7 inoculadas con muestra de bacterias degradadoras de petróleo proveniente de lodos en las figuras 2 y 3, se aprecia un evidente consumo del hidrocarburo. La placa corresponde a una muestra donde la identificación bioquímica indicó la predominancia de la bacteria *Pseudomona* de petróleo de lodos.



Figura 3: Placa día 7 para inoculada con muestra de bacterias degradadoras

La bacteria identificada en los sedimentos se muestra en la tabla 2, donde 7 de 12 muestras de aguas superficiales presentaron a la *Pseudomonas aeruginosa* como bacteria dominante, así mismo 2 de 12 muestras presentaron a la *Serratia sp.* también 2 de 12

de las muestras se presentaron *Enterobacter sp.* y 1 de las 12 muestras presento *Citrobacter sp.*

Como se aprecia la *Pseudomonas spp.* es un bacilo Gram negativo aerobio. La mayoría de especies tienen una temperatura óptima de crecimiento entre 30-37°C, pero pueden sobrevivir y multiplicarse en casi cualquier ambiente, incluyendo aquellos con elevado contenido de sales, y en un rango de temperaturas comprendido entre 20-42°C. (Ruiz Martinez, 2007) . Está presente en el agua y lodos siendo dominante en los análisis bioquímicos.

Tabla 2
Bacterias identificadas en aguas superficiales

N°	Código	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Serratia sp</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>Citrobacter sp</i>	<i>Acinetobacter sp</i>
1	A1 1.1	X				
2	A1 1.2	X				
3	A1 1.3	X				
4	A1 1.4	X				
5	A1 1.5		X			
6	A1 1.6	X				
7	A2 2.1		X			
8	A2 2.2			X		
9	A2 2.3	X				
10	A2 2.4				X	
11	A2 2.5	X				
12	A2 2.6			X		

Las bacterias identificadas son comúnmente utilizadas en los tratamientos como la *Acinetobacter Sp*, *Sphingobacterium Sp* y *Stenotrophomona Sp*, presentes como

este caso extraídas de un suelo contaminado de manera crónica por hidrocarburos, de un lugar donde se usan sustancias como el aceite lubricante, son consideradas bacterias aptas



para la degradación del contaminante usado, puesto que al haber estado presentes en el sitio afectado durante un largo período lograron adaptarse a este y desarrollar el sistema que les permite degradar contaminantes orgánicos derivados de las actividades humanas (Ruíz Marín , Zavala Loria, Canedo López, & Cordova Quiroz, 2013) . Así mismo (Leahy & Colwell, 1990), indicaron que los microorganismos degradadores de hidrocarburos más importantes, tanto en aguas como en suelos son: *Pseudomonas sp.*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium* y *Nocardia*. En el caso del Golfo de México se ha encontrado una gran diversidad microbiana, como se ha observado en estudios llevados a cabo en zonas de las costas de Florida, Campeche, Veracruz y en el delta del río Mississippi que han sido afectadas por derrames de petróleo. En estos sitios se han detectado alrededor de 24 especies de bacterias distribuidas en 14 géneros. Entre los que se encontraron: *Gammaprotobacteria*, *Marinobacter*, *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (Kostka, y otros, 2011). Mientras tanto la identificación de cepas bacterianas permitió observar la presenta bacterias de los géneros *Micrococcus sp.*, *Ochrhobactrum sp.*, *Clavibacter sp.*, *Kocuria rosasea*, *Bacillus sp.*

y *Rhodococcus sp.* todos microorganismos que poseen metabolismos con capacidad de degradar hidrocarburos (Pucci, Acuña, & Pucci, 2015). Los presentes revelan que la diversidad de las baterías en medio acuosas, es predominantemente de bacterias Gram negativa y la *Pseudomonas sp.* es una especie con alta resistencia a estos ambientes contaminados con hidrocarburos y de alta capacidad degradadora.



Figura 4: Placa día 1 para inoculada con muestra de bacterias degradadoras de petróleo de aguas superficial

Como se aprecia en la comparación de las placas en el día 1 y 7 inoculadas con muestra de bacterias degradadoras de petróleo proveniente de aguas superficiales en las figuras 4 y 5, se aprecia un evidente consumo del hidrocarburo. La placa corresponde a una muestra donde la identificación bioquímica indico la predominancia de la bacteria *Pseudomona sp.* y la *Serratia sp.*



Figura 5. Placa día 7 para inoculada con muestra de bacterias degradadoras de petróleo de agua superficial

El género *Serratia* está formado por bacilos Gram negativos y forma parte de la familia Enterobacteriaceae (Van-Houdt, Givskov, & Michiels, 2007)

Características de las aguas y lodos

De los parámetros fisicoquímicos identificados en campo, se obtuvieron los siguientes datos.

Como se aprecia el pH del agua y de los lodos rondan el rango alcalino, así mismo indica (Pelleroni, 2005) que la mayoría de especies, no crecen bajo condiciones ácidas (pH 4,5 o menor).

Tabla 3
Características de las aguas y lodos

MUESTRAS	Parámetros Fisicoquímicos		
	pH	T°	Oxígeno Disuelto
A1	7.3	30.8	3.5
A2	7.3	30.9	3.8
L1	7.1	28.9	-

L2	7.1	28.4	-
----	-----	------	---

Así también se aprecia que la temperatura del agua y lodos es entre los 28°C y 31°C, condiciones en las que la *Pseudomonas* puede crecer entre 20°C y 43°C, y al crecer en altas temperaturas se diferencia del resto de las otras especies (Yordanov & Strateva, 2009). En tanto (Volke Sepúlveda & Velazco, 2012) mencionan la temperatura ideal entre 25°C y 35°C, Cumpliéndose así las condiciones óptimas para que en estas aguas proliferen eficientemente muchas especies bacterianas y sea más factible la adaptación de las bacterias degradadoras de petróleo.

Conclusiones

Se identificaron cinco (05) géneros bacterianos: i) *Pseudomonas aeruginosa* (58,3%), ii) *Acinobacter sp* (20,8%), iii) *Serratia sp* (8,3%), iv) *Enterobacter sp* (8,3%) y v) *Citrobacter sp* (4,2%); en las muestras tomadas de entrada y salida de una actividad petroquímica, las cuales tuvieron capacidad de adaptación y crecimiento en cultivo con petróleo como fuente de carbono y energía.

Referencias bibliográficas

Alsaleh, E., Drobiova, H., & Obuekwe, C. (2009). Predominant Culturable Crude Oil Degrading Bacteria in the Coast of Kuwait. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(4), 400-406.



- Bracho, M., Diaz, L., & Soto, L. (2004). Biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y heterocíclicos por *Pseudomonas spp.* Ciencia, 12(4), 269-275.
- Díaz-Martínez, M., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz- Suarez, J., & García-Barradas, O. (2013). Crecimiento de *Casuarina equisetifolia* (Casuarinaceae) en suelo con diésel, y aplicación de bioestimulación y bioaumentación. Revista de Biología Tropical, 61(3), 1039-1052.
- Kostka, J., Prakash, E., Overholt, O., Green, W., Freyer, S., Canion, G., Huettel, M. (2011). Hydrocarbon-degrading bacteria and the bacteria community response in Gulf of Mexico beach sands impacted by Deepwater Horizon oil spill. Applied and Environmental Microbiology, 77(22), 7962-7964.
- Lahura Albújar, N., & Borda Luna, B. (2015). Eficiencia del *Acinetobacter sp.* y *Pseudomonas sp.* en la biorremediación de suelos contaminados con aceites dieléctricos minerales. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería.
- Lakshmi, P. (2013). Biodegradation of diesel by *Aeromonas hydrophila*. Int. J. Pharm. Sci. Invent., 4, 24-36.
- Leahy, J., & Colwell, R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiol Rev, 54(3), 305-315.
- López, J., Quintero, J., Guevara, A., Jaimes, D., Gutiérrez, S., & Miranda, J. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. Nova, 4(5), 82-90.
- Mackey, A., & Hoddgkinson, M. (1996). Assesment of the impact of Naphthalenecontamination on mangrove Assesment of the impact of Naphtalene contamination on mangrove fauna using behavioral bioassays. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 56, 279-286.
- Malik, Z., & Ahmed, S. (2012). Degradation of petroleum hydrocarbons by oil field isolated bacterial consortium. Afr. J. Biotechnol, 11(3), 650-658.
- Maposita, M., Fiallos, C., & Calle, W. (2010). Caracterización microbiológica en suelos contaminados por hidrocarburos de tipo *Pseudomonas* en el sector Rio Bonanza, provincia de Pastaza. Guayaquil.
- Martínez, A., Pérez, M., Pinto, J., Gurrola, B., & Gurrola, A. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. Rev. Int. Contam. Ambie., 27(3), 241-252.
- Palleroni, N. (1992). Present situation of the taxonomy of aerobic pseudomonads. In: E. Galli, S. Silver, and B. Witholt (Eds.) *Pseudomona*. Molecular Biology and Biotechnology. Washington: ASM Press.
- Palleroni, N.J. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. New York: Springer-Verlag.
- Pelleroni, N. (2005). *Pseudomonas*. En D. Brenner, N. Krieg, J. Staley, & G. Garrity, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (págs. 323-379). New York: Springer-Verlag.
- Pucci, G., Acuña, A., & Pucci, O. (2015). Biodegradación de hidrocarburos en fondos de tanques de la industria petrolera. Revista Peruana de Biología,

- 22(1), 97-101. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-99332015000100006&script=sci_arttext
- Ruíz Marín, A., Zavala Loria, J., Canedo López, Y., & Cordova Quiroz, A. (2013). Aislamiento de bacterias tropicales en suelo de mangle contaminado por hidrocarburos: biorremediación por atenuación natural y bioaumentación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12(03), 1-8.
- Ruiz Martínez, L. (2007). *Pseudomonas aeruginosa*: Aportación al conocimiento de su estructura y al de los mecanismos que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos. Barcelona: Universidad de Barcelona.
- Schroth, M., Hildebrand, D., & Panopoulos, N. (1992). *Phytopathogenic pseudomonads and plant-associated pseudomonads*. New York: Springer-Verlag.
- Spier, C., Stringfellow, W., Hazen, T., & Conrad, M. (2013). Distribution of hydrocarbons released during the 2010 MC252 oil spill in deep offshore waters. *Environmental Pollution*, 173, 224-230.
- Van-Houdt, R., Givskov, M., & Michiels, C. (2007). Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS Microbiol Rev*, 31, 407-424.
- Vásquez, M., Guerrero Figueroa, J., & Quintero, A. (2010). Biorremediación de lodos contaminados con aceites lubricantes usados. *Biorremediación de lodo*, 12(1), 141-157.
- Vennila, R., & Kannan, V. (2011). Bioremediation of petroleum. *Afr.J. Biotechnol.*, 10(44), 8829-8833.
- Volke Sepúlveda, T., & Velazco, J. (2012). El composteo: una alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México. *Gaceta Ecológica*, 66, 41-53.
- Xu, Y., & Lu, M. (2010). Bioremediation of crude oil-contaminated soil: comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments. *J. Hazard. Mater.*, 183, 395-401.
- Yordanov, D., & Strateva, T. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. *J. Med. Microbiol.*, 58(9), 1133-1148. doi:10.1099/jmm.0.009142-0.

